Über die Entwicklung der Flügelschuppen und die Bildung der Imaginalcuticula bei der Mehlmotte Ephestia kühniella Z.

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt

von

Neidhard Paweletz

aus Ossen Krs. Gr. Wartenberg

Göttingen 1965

Über die Entwicklung der Flügelschuppen und die Bildung der Imaginalcuticula bei der Mehlmotte Ephestia kühniella Z.

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt

von

Neidhard Paweletz

aus Ossen Krs. Gr. Wartenberg

Göttingen 1965

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

D 7

Referent: Prof. Dr. Fr.W. Schlote
Korreferent: Prof. Dr. G. Bixukow

Tag d.mdl. Prüfung: 26.2.1965

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Material und Methoden	4
A. Allgemeines	4
B. Präparation, Fixation, Einbettung	5
C. Hitzeschockversuche	6
D. Bestimmung der verschiedenen Abstände der Strukturelemente einer Schuppe	6
Befunde	7
A. Die Entstehung der Imaginalcuticula	7
B. Die Struktur normaler Schuppen	13
C. Abweichungen von der Normalstruktur	17
D. Störung der Normalstruktur durch Hitzeschock	18
Diskussion	21
A. Die Epicuticula	21
1. Allgemeines	21
2. Die Cuticulinschicht	22
3. Die Polyphenolschicht	26
4. Die Wachsschicht	27
5. Die Zementschicht	28
B. Die Procuticula	28
1. Bildungsweise	28
2. Schichtung	29
C. Die Röhrchen im Cytoplasma der Hypodermiszellen	30
D. Vergleich zwischen Flügel- und Schuppencuticula	32
E. Abweichungen von der Normalstruktur der Flügelschuppen	33
1. Störungen im Querrippenverlauf normaler Schuppen	33
2. Künstliche, durch Hitzereiz hervorgerufene Störungen	34
Zusammenfassung	36
Literaturverzeichnis	38

Einleitung:

Die Schuppen der Schmetterlinge werden wie die echten Borsten und Haare anderer Insekten von einer einzigen Epidermiszelle gebildet. Die Schuppe einer Mehlmotte ist 0,5 - 1 µ dick, 20 - 80 µ breit und einige 100 µ lang. Sie besteht aus zwei übereinanderliegenden, kaum 0,1 µ starken Cuticulaschichten, die an den Rändern ineinander übergehen und durch senkrechte Pfeiler, die Trabekel, miteinander verbunden sind. Die vom Integument abgekehrte Oberseite einer Schuppe ist in Abständen von ungefähr 1 µ zu Längsrippen aufgefaltet. Diese ziehen von der Spitze zur Basis. Auch ein Teil der Unterseite ist mit Längsrippen besetzt. Dazwischen spannen sich mit einer Periode von 0,15 - 0,2 µ die wesentlich dünneren, im Lichtmikroskop kaum erkennbaren Querrippen. Die Oberseite reifer Schuppen ist an zahlreichen Stellen durchlöchert, so daß das Schuppeninnere mit der Außenluft in Verbindung treten kann (KÜHN und AN 1946).

Somit ist die Cuticula einer Schmetterlingsschuppe sehr viel reichhaltiger differenziert als die Cuticula irgendeiner anderen Hypodermiszelle. Dennoch lassen Querschnitte eine Schichtung und die für Exocuticulae charakteristischen Balkenlagen (PFAFF 1952) vermissen. Es könnte sein, daß Schuppencuticulae grundsätzlich anders gebaut sind als normale Imaginalcuticulae, gelang es doch z.B. PICKEN (1949) nicht, in jungen Schuppen das sonst allgegenwärtige Chitin nachzuweisen. Deshalb ist es erforderlich, vor einer näheren Beschäftigung mit den Vorgängen, welche das intime Ordnungsmuster einer Schuppe bewirken, die Entwicklung einer normalen Imaginalcuticula zum Vergleich heranzuziehen.

Über den Bau normaler Imaginalcuticulae berichtet LOCKE (1959, 1960, 1961). Er beschäftigt sich indessen vornehmlich mit der Frage nach der Entstehung der Wachsschicht. Offenbar werden Vorstufen des Wachses als

dünnste Tubuli von der Hypodermiszelle hergestellt, wandern durch die Zellgrenzmembran in die Porenkanäle ein, werden von ihnen bis dicht an die Cuticulinschicht herangeführt und dort mittels einer Esterase zu Wachs umgeformt. In einigen Fällen scheint das Wachs die über der Cuticulinschicht liegende "schellackähnliche" Zementschicht aufzubrechen (1960), in anderen hat man eher den Eindruck, als lagere es sich unmittelbar unter die Cuticulinschicht ein (1961). Über die Entwicklung dieser Schichten schreibt LOCKE nichts.

Die Form der Schmetterlingsschuppen variiert stark (SCHNEIDER 1878). Bei derselben Art ändert sie sich von einer Körperregion zur anderen und von Farbe zu Farbe (KÜHN 1948). Außerdem setzt sich das Schuppenkleid eines Schmetterlings aus mehreren Schuppentypen zusammen, die sich in ihrer Größe voneinander unterscheiden. Bei Ephestia z.B. machen die kleinen, wenig pigmentierten Tiefenschuppen etwa 50 % der Gesamtbeschuppung aus. Zur Färbung des Flügels tragen sie nicht bei, da sie dem Integument unmittelbar aufliegen und von den anderen Schuppen bedeckt werden. Es sind die Mittelschuppen (35 %), vor allem aber die großen Deckschuppen (15 %), die mit ihren jeweils acht verschiedenen Farbarten das Zeichnungsmuster bilden (KÜHN und HENKE 1932, HENKE und MERTZ 1941).

Dies Zeichnungsmuster läßt sich, schockt man in der das Muster determinierenden Phase, durch Hitzereize beeinflussen (FELDOTTO 1933, KÜHN 1936, 1941, STUBBE 1938, KÖHLER und FELDOTTO 1937, KÜHN 1948). Aber auch die Form der Schuppe selbst wird durch einen Hitzeschock abgewandelt. Häufig kommt es zu Mißbildungen.

Die Entwicklung der Schuppen des Vorderflügels der Mehlmotte ist von KÖHLER (1932) und STOSSBERG (1937, 1938) eingehend untersucht worden, die von Lymantria durch REICHELT (1925). Durch zwei differentielle Zellteilungen

entstehen Schuppen- und Balgbildungszellen. Während die Epidermiszellen diploid bleiben, werden die Kerne der Schuppen- und Balgbildungszellen polyploid. Ihr Ploidiegrad ist der Größe der späteren Schuppe bzw. des Balges korreliert (STOSSBERG 1938, HENKE und MERTZ 1941). Der auswachsende Fortsatz einer Schuppenbildungszelle ist zunächst drehrund, dann keulenförmig. Seine Oberfläche befindet sich, wie Querschnitte wahrscheinlich machten, in beträchtlicher Bewegung. Später flacht er sich ab und die Zellgrenzschicht glättet sich. Nun wird eine Substanz abgeschieden, die in einigen 100 AE Abstand vom Plasmalemma eine ca. 200 AE breite mehrschichtige Membran, die Cuticulinschicht, ausbildet. Dadurch sind die Vorbedingungen zur weiteren Ausdifferenzierung geschaffen. Denn bald darauf falten sich Cuticulinschicht und Plasmalemma zur Anlage der Längsrippen empor. Auch die Querrippen scheinen auf ähnliche Weise zu entstehen. An der Ausbildung der Trabekel ist jedoch nur die Zellgrenzmembran beteiligt. Sie stülpt sich an den dafür vorgesehenen Stellen zu fingerförmigen häufig verzweigten Schläuchen ein (PAWELETZ u. SCHLOTE 1964).

Noch während Querrippen und Trabekel angelegt werden, füllt sich der Raum zwischen Cuticulinschicht und Zellgrenzmembran mit fibrillärem Material, die Cuticula beginnt sich zu bilden (PAWELETZ u. SCHLOTE 1964). Somit lassen sich die formgebenden Prozesse auf Eigenschaften der Zellgrenzmembran und der darüberliegenden Cuticulinschicht zurückführen, keinesfalls aber auf ein intraplasmatisches Ordnungsgefüge, wie es WADDINGTON (1960) für die Bildung der Rhabdomeren diskutiert.

Für die Intimstruktur einer Schuppe sind die Perioden bedeutungsvoll, mit denen Längsrippen, Querrippen, Trabekel, Löcher und Verklebungszonen voneinander Abstand halten. Da die Intensität, mit der diese Formelemente in Erscheinung treten, gewöhnlich von proximal nach distal zunimmt, ein Schmetterling außerdem mehrere von-

einander verschiedene Schuppentypen besitzt, so wäre es wünschenswert, die Variabilität der verschiedenen Perioden kennenzulernen.

Von den obengenannten Strukturelementen werden die Längsrippen mit Sicherheit vor den Querrippen angelegt (PAWELETZ u. SCHLOTE 1964). Die weitere Reihenfolge ist unklar. Entstehen z.B. Löcher und Trabekel gleichzeitig mit, vor oder nach den Querrippen? Läßt sich die Intensität der Trabekelbildung anderen Faktoren z.B. der Schuppenfarbe korrelieren? Sind die zu Längsrippen, Querrippen, Trabekeln und Löchern führenden Vorgänge miteinander verknüpft, dergestalt, daß Störung des einen Vorganges auch das andere Element zum Verschwinden bringt?

Man kann versuchen, aus Abweichungen in der Gestalt der normalen Strukturelemente, z.B. der Querrippen, Schlüsse auf die Reihenfolge der Entwicklungsschritte zu ziehen (vgl. KÜHN 1948). Vor allem aber müßte man das Wachstum der Elemente in verschiedenen phänokritischen Phasen stören.

MATERIAL und METHODEN

A. Allgemeines

Versuchsobjekt ist der Vorderflügel der Mehlmotte Ephestia kühniella Zeller eines Stammes, der im 1. Zoologischen Institut, Göttingen, nach den von KÜHN und HENKE (1929) ausgearbeiteten Verfahren gehalten wird (vgl. auch PAWELETZ u. SCHLOTE 1964).

Sobald sich die erwachsenen Raupen eingesponnen haben, präpariert man sie vorsichtig aus ihrem Gespinst heraus und legt sie in eine mit ein wenig Futter versehene Petrischale. Dort läßt sich das Abstreifen der Larvenhaut gut beobachten. Es gilt als Nullpunkt der Datierung.

Zu Beginn der Untersuchungen wurden die Tiere bei Zimmertemperatur, später bei +25 Grad in einem Thermostaten gehalten. Aber selbst dann verläuft die Schuppenentwicklung innerhalb eines Flügels nicht synchron. Sie beginnt vielmehr an der Flügelbasis und schreitet nach distal fort (STOSSBERG 1938). Auch haben die einzelnen Schuppentypen eine etwas verschiedene Entwicklungsdauer und die Flügelunterseite bleibt hinter der Oberseite zurück. Um diese objektbedingte Streuung zu verringern, wurden Ultradünnschnitte nur von dem Bereich des Vorderflügels angefertigt, aus dem später die Schuppen der äußeren Zeichnungsbinden bzw. die ihnen gegenüberliegenden Schuppen der Flügelunterseite hervorgehen. Denn es gelang nicht, die Flügelanlage so zu präparieren, daß sich Ober- und Unterseite im Dünnschnitt mit Sicherheit wiedererkennen lassen. Da jedoch eine Anzahl von Stadien durch typische Merkmale gekennzeichnet ist, können die Befunde, wenn auch nicht exakt datiert, so doch einigermaßen seriiert werden.

B. <u>Präparation, Fixation, Einbettung</u>

Kurz nach der Verpuppung lassen sich die zarten Flügelanlagen nicht unbeschädigt aus der Puppe herauspräparieren. Deshalb wurde den Puppen Kopf und Abdomen abgeschnitten und das Reststück durch Frontalschnitte in zwei Halbzylinder geteilt. Nach einer kurzen Vorfixierung in Formol sind die Flügelanlagen soweit erhärtet, daß sie ohne größere Zerreissungen von der Puppencuticula abgelöst und in frisches Fixiergemisch übertragen werden können.

Vorfixierung: Formol, 4 %, mit Veronalacetat-Lösung (v. GAUDECKER 1963) auf pH 7,2 gepuffert. Dauer 1,5 Std, Zimmertemperatur.
Zweite Fixierung: Osmiumtetroxyd, 1 %, mit Veronalacetat-Lösung auf pH 7,2 gepuffert. Dauer 1,5 Std, Zimmertemperatur.
Dritte Fixierung: wässerige Uranylacetatlösung, 1 %. Dauer 2 Std, Zimmertemperatur.
Entwässerung über Äthanol. Einbettung in Methacrylat (7 Tle Butyl-, 3 Tle Methylmethacrylat, 0,3 % Benzoylperoxyd). Polymerisation bei +80 Grad für 16 - 20 Stunden.

Nachkontrastierung der Dünnschnitte mit Uranylacetat nach WATSON (1958 a), Bleihydroxyd nach WATSON (1958 b) oder Silbernitrat nach MARINOZZI (1961). Elektronenmikroskop Siemens Elmiskop 1. Mikrotom: Leitz. Fotomaterial: Agepe von Agfa, Planfilm. Entwickler Varitol hart.

C. Hitzeschockversuche

Zu den Hitzeschockversuchen wurden Tiere gewählt, die sich bei +25 Grad entwickelt hatten. Puppen des gewünschten Alters wurden für 45 min in Petrischalen in einen Thermostaten bei +45 Grad gestellt, danach bei +25 Grad weiterkultiviert.

D. Bestimmung der verschiedenen Abstände der Strukturelemente einer Schuppe

Berührt man einen beschuppten Flügel mit einer befilmten Netzblende, so bleiben gewöhnlich einige Schuppen an dem Film hängen. Skizziert man nun die Lage der Blende auf dem Flügel, anschließend die an ihr haftenden Schuppen, dann gelingt es, beliebige Schuppen von jeder gewünschten Stelle mit einiger Sicherheit in das Elektronen-

mikroskop zu bringen. Zur Sicherheit wird die schuppentragende Blende vor dem Einführen in das Elektronenmikroskop mit einer zweiten befilmten Netzblende bedeckt.

Von jedem Schuppentyp wurden 6 - 8 Schuppen bei 5000 x Eigenvergrößerung basal, median und apikal fotografiert, die Bilder auf 7500 x nachvergrößert und die gewünschten Strukturen mit Lineal, Schieblehre oder Meßlupe vermessen. Zur statistischen Auswertung wurden die von JUST (1935) angegebenen Verfahren sowie der p-Test nach HENRYSON (1960) herangezogen.

Befunde

A. Die Entstehung der Imaginalcuticula

Gegen Ende des letzten Larvenstadiums bildet sich die Puppencuticula. Sie wird sichtbar, sobald die erwachsene Raupe ihre Haut abstreift. Sie ist dann noch weich und unpigmentiert. Wenige Stunden später wird sie braun und hart.

Es ist zur Zeit nicht möglich, Cuticula und Hypodermis junger Puppen gemeinsam darzustellen. Fertigt man Dünnschnitte an, so zerreißt, gleichviel ob man in Methacrylat oder Vestopal eingebettet hat, jeder Schnitt entweder an der Grenze zwischen Puppencuticula und Einbettmittel oder in der Cuticula selbst.

In 4 Stunden alten Puppen haftet die von Porenkanälen (Po) durchzogene Puppencuticula noch fest an den Zellen der Hypodermis (Abb. 1a,b). Diese sind etwa 0,5 μ unter der Oberfläche durch Desmosomen (Abb. 1a: D) eines Typs

miteinander verbunden, wie er z.B. im Integument von Vertebraten auftritt. Die dem Cytoplasma zugekehrten Flächen einander gegenüberstehender Zellgrenzmembranen sind über eine Strecke von 1 - 2 µ mit extrem dunkler Substanz belegt. Während aber bei den Desmosomen der Vertebraten im zwischenzelligen Raum mehrere dunkle Schichten auftreten, konnten solche Gebilde hier noch nicht aufgefunden werden. Beim zweiten Typ (Abb.2 c-d) scheinen die einander gegenüberliegenden Membranen durch dunkle Zähne miteinander verbunden zu sein. Tangentialschnitte zeigen jedoch mehrere einander im Abstand von 150 AE parallele dunkle Leisten, die in gleichmäßigen Intervallen durch Stege überbrückt werden. Beide Typen von Desmosomen kommen unmittelbar nebeneinander vor. Der Vertebratentyp ist auf den der Cuticula nahen Zellbereich beschränkt. Zwischen einander gegenüberliegenden Desmosomen dieser Art spannen sich lockere Bündel aus feinsten Filamenten (vgl. auch Abb.2a und b).

Im Cytoplasma befinden sich Golgiapparate (Abb.1b; 2a; Go). Ihre Zisternen sind offenbar zum Teil artefiziell erweitert. Denn an ihrer Peripherie trifft man mitunter neben den bekannten kleinen Bläschen (ZEIGEL und DALTON 1962) auf große dunkle Grana (Gr.1), deren Inhalt mit dem Lumen großer leerer Golgivakuolen kommunizieren kann (Abb.1b: Pfeil). Es gibt Golgiapparate mit (Abb.1b) dunklen Grana und andere (Abb.2a) ohne diese.

Die der Cuticula zugewandte Seite der Zellgrenze ist stark zerklüftet. Hin und wieder finden sich in diesem Bereich des Cytoplasmas Blasen von 0,1 - 0,2 µ Durchmesser (Abb.1b: Gr.2). Ihre ungewöhnlich dicke Membran ist innen wie außen mit dunklem granulärem Material besetzt.

In Bildern von 18 Stunden alten Puppen hat sich die Cuticula ein wenig von der Hypodermis entfernt. Dadurch ist zwischen ihr und der Zellgrenze eine helle Schicht entstanden. Sie wird von zumeist tangential verlaufenden

dunklen Filamenten durchzogen. Es gibt jedoch Bereiche, wo die Filamente an der innersten Schicht der Cuticula (Abb.3b) oder aber an der Zellgrenzmembran (Abb.3a) schräg ansetzen. Diese hat sich in ziemlich regelmäßigen Abständen leicht emporgewölbt. Sie ist an solchen Stellen durch einen schmalen dunklen Saum verstärkt (Pfeile). Im Cytoplasma der Hypodermiszellen liegen 200 AE starke, wenig Kontrast gebende Röhrchen (Abb.3a: Rö, vgl. auch Abb.10a). In manchen Entwicklungsabschnitten ist ihre Konzentration wesentlich größer als hier (vgl. S.12).

Sind die Puppen 2 Tage alt geworden, so hat sich die Cuticula vollständig von der Hypodermis gelöst. Ein großer Exuvialraum (Ex) ist entstanden (Abb.4). Die an ihn grenzende Oberfläche der Hypodermiszellen ist nach wie vor stark zerklüftet. Außerdem haben sich benachbarte Zellen bis fast zu den Desmosomen hinauf voneinander getrennt. Sie bilden ein Stelzenepithel (KÖHLER 1932). In die Zwischenräume ist Hämolymphe eingedrungen (Häm.).

Die Epithelien der Flügelober- und -Unterseite berühren einander in der Mittellamelle. Das ist eine überaus flache Schicht, zu der sich die basalen Zellausläufer beider Seiten vereinigt haben (Abb.4: Mi La). Die Hypodermiszellen sind zu diesem Zeitpunkt besonders reich an Ribosomen. Außerdem enthalten sie zahlreiche bis zu 1 μ große von keiner Membran umschlossene dunkle Tropfen (Abb.4: Gr.3, vgl. auch Abb.11).

Nun sind die Vorbedingungen für die Entstehung der Imaginalcuticula geschaffen. Zunächst überzieht sich die an den Exuvialraum grenzende Oberfläche der Hypodermiszellen mit einer flockigen Schicht, die sich an der Spitze von lobopodienartigen Zellfortsätzen verdichtet. Dort erblickt man (Abb.5a,b: Pfeile) bald die ersten Anfänge von einer membranartigen Struktur. Sie breitet sich nach und nach aus und bedeckt die Ausläufer kappenartig (Abb.5b). Sodann verschmelzen benachbarte Kappen und es

entsteht eine lückenlose Membran, die Cuticulinschicht (Abb.5d, vgl. WIGGLESWORTH 1947).

Überfärbt man Dünnschnitte von Objekten dieser Phase mit Silbernitrat nach MARINOZZI (1961), so schlägt sich das kolloidale Silber über der Cuticulinschicht geradesogut nieder wie über den übrigen cytoplasmatischen Membranen (Abb.5c). Die ribosomenartigen Partikel, die Röhrchen (Abb.10b) und wohl auch die amorph verteilten Proteine bleiben ungefärbt. Cuticulinschicht und cytoplasmatische Membranen verhalten sich in dieser Hinsicht gleichartig.

Hat sich die Cuticulinschicht gebildet, was bei 18 Grad in der Zeit zwischen 100 und 120 Stunden vonstattengeht, so glättet sich die Zelloberfläche ein wenig. Sie verbleibt nun in diesem Zustand bis zu dem Augenblick, wo die Abscheidung von Cuticularsubstanz verstärkt einsetzt, d.h. bis zum Alter von etwa 180 Std. Inzwischen laufen jedoch einige andere Prozesse ab.

Zunächst füllt sich die Zone zwischen Cuticulinschicht und Zellgrenze mit einer Substanz, deren Struktur nicht deutlich zu erkennen ist. Sodann taucht unmittelbar ü b e r der Cuticulinschicht eine teils amorphe teils fibrilläre Masse auf (Abb.5e: Fi). Sie läßt eine dünne kaum Kontrast gebende Deckschicht aus sich hervorgehen (Abb.5e: DS). Zu dieser Zeit besitzt die Cuticulinschicht an zahlreichen nicht weit voneinander entfernten Stellen verwaschene Zonen (Abb.6, Pfeile). Auch wölbt sich ihre äußerste Schicht zu kurzen Trichtern empor (Abb.6: geschwänzter Pfeil) oder es kommt zu membranbegrenzten Protuberanzen (Abb.6e: doppelt geschwänzter Pfeil), unter denen die Cuticulinschicht durchbrochen ist (Abb.8a,b). Der Gedanke liegt nahe, daß Vorstufen für die Substanzen der Deckschicht, die in den Hypodermiszellen synthetisiert wurden, an diesen Orten durch die Cuticulinschicht hindurchtreten. Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, daß sich in der Zeit zwischen 100 und 130 Stunden,

also während und kurz nach der Bildung der Cuticulinschicht, flache oder auch tiefere, membranbegrenzte Säckchen (S) zur Zelloberfläche hin öffnen (Abb.6a-e: S). Doch kann die Richtung des Stoffstromes, der mit dieser Erscheinung verbunden sein dürfte, nur mit physiologischen Methoden ermittelt werden.

Es ist sicher, daß viele reife Imaginalcuticulae als Schutz gegen Verdunstung von einer Wachs- und einer Zementschicht bedeckt sind. Gemeinsam mit einer die obersten Bereiche der Cuticula imprägnierenden Polyphenolschicht (WIGGLESWORTH 1947) bilden sie die Epicuticula. Die Frage, in welcher räumlichen Beziehung diese Schichten zur Cuticulinschicht stehen, ist trotz mehrfacher Versuche (LOCKE 1959, 1960, 1961) nicht eindeutig entschieden. Deshalb soll das Schicksal der Cuticulinschicht verfolgt werden, soweit es der augenblickliche Stand der Einbettechnik erlaubt.

Die Cuticulinschicht ist gekennzeichnet durch eine gleichbleibende Dicke von etwa 150 AE. Sie setzt sich aus zwei dunklen peripheren und einer hellen zentralen Zone zusammen. In der Mitte des hellen zentralen Bereiches befindet sich eine dritte dunkle Schicht (Abb.7a-c). Im Vergleich zu den peripheren dunklen Zonen ist sie kontrastarm.

In jungen Puppen gibt eine einzelne periphere Lage der Cuticulinschicht etwa denselben Kontrast wie eine Zellgrenzmembran (Abb.7a-b). Vom Puppenalter 120 Std. an ändert sich das. Einmal wird die Cuticulinschicht, offenbar durch Einlagerung von Substanz, selbst kontrastreicher (Abb.7c, Abb.8e,f), zum anderen lagert sich unmittelbar unter ihr eine etwa 300 AE breite extrem dunkle Schicht ab (Abb.8d,g). Sie grenzt an eine etwas hellere Zone, in der sich, wenn auch nicht so stark, weitere dunkle Horizonte ausbilden (Abb.8e-g). Cuticulinschicht, Einlagerungsschicht und dunkle Horizonte lassen sich mit Permanganat ebensogut fixieren, wie mit Osmiumtetroxyd,

während alle übrigen Strukturen, ausgenommen die cytoplasmatischen Membranen, durch Permanganat homogenisiert werden. Da Permanganat vorzugsweise Lipoide stabilisieren soll (BRADBURY und MEEK 1960), wird vermutet, daß es sich hier ebenfalls um Lipoide handelt.

Cuticulinschicht und darunter liegendes Material trennen sich nie voneinander. Die Deckschicht löst sich dagegen häufig ab (Abb.8d,e), bleibt jedoch sichtbar. Nach Permanganatfixierung ist sie verschwunden (Abb.8h). Auch bleibt sie, selbst über fast reifen Cuticulae (Abb.7c,8k), stets kontrastarm und hält, sofern sie am Cuticulin haftet, von diesem etwa 70 AE Abstand.

Bis zum Puppenalter von etwa 180 Stunden wird die Cuticula kaum dicker. Sind aber die peripheren Schichten fertiggestellt, dann setzt die Synthese von Cuticularsubstanz mit Macht ein. Die Oberfläche der Zellen gerät erneut in Bewegung. In 0,1 - 0,15 μ Abstand voneinander bilden sich zahlreiche kurze fingerförmige Fortsätze. Die Zellgrenzmembran ihrer Kuppen ist durch dunkle Massen verstärkt (Abb.8i,9: Pfeile, vgl. auch Abb.3). Dünnste Filamente durchziehen nun den Raum zwischen jenen Kuppen und dem Innenrand der Cuticula. Sie liegen einander streng parallel. Manchmal sieht es so aus, als würden sie an den Kuppen ihren Anfang nehmen.

Im Cytoplasma von Hypodermiszellen wie Schuppenbildungszellen stößt man auf zahlreiche langgestreckte Röhrchen von etwa 200 AE Durchmesser. Sie werden von einem überaus schmalen dunklen Saum begrenzt (Abb.7b, Abb.8i, Abb.9: Rö). Ähnliche Röhrchen treten gebündelt in die Porenkanäle ein (Abb.8: Po) oder sie durchdringen einzeln, jedoch dicht bei dicht liegend, die tieferen Lagen der Cuticula (Abb.10a). Im Gegensatz zu den Membranen des Cytoplasmas schlägt sich an ihrer Grenzschicht k e i n kolloidales Silber nieder (Abb.10b: Rö).

Das Cytoplasma der Hypodermiszellen enthält zu Beginn der Verpuppung, d.h. um 0 Stunden herum, viele Röhrchen. Dasselbe gilt für die Zeit zwischen 100 und 200 Stunden. In 50 Stunden alten Hypodermiszellen dagegen findet man nur ganz wenige Röhrchen. Dafür treten in solchen Zellen mehr als 1 μ große dunkle, von keiner Membran umhüllte Tropfen auf (Abb.11a). Ihre Ränder scheinen oft mit den Elementen des Grundcytoplasmas zu verschmelzen.

Während diese Grana Stoffwechselprodukte noch unbekannter Zusammensetzung darstellen dürften, haben andere Einschlußkörper offenbar eine gänzlich davon verschiedene Bedeutung. Man findet nämlich in Hypodermiszellen verschiedenster Altersphasen membranumschlossene Vakuolen, in denen ovale, von zwei nahe benachbarten Membranen umschlossene Gebilde liegen (Abb.11,a-c: Gr.4). Im Zentrum dieser Körper erblickt man feinste Fäden. Ihre Peripherie wird von dunklen feingranulierten oder grobfibrillären Massen eingenommen. Der Gestalt nach handelt es sich um Bakterien, also offenbar um Symbionten.

B. Die Struktur normaler Schuppen

Die Deck-, Mittel- und Tiefenschuppen der Mehlmotte unterscheiden sich durch ihre Länge und ihre Farbe. Die Tiefenschuppen sind einförmig grau und besonders klein. Von den Mittel- und Deckschuppen gibt es acht verschiedene Farbtypen, z.B. einförmig grau, graue Basis - schwarze Spitze, schwarze Basis - graue Spitze. Die Längen der Schuppen eines Farbtyps gruppieren sich gewöhnlich um zwei Mittelwerte, jedoch sind die Verteilungskurven nicht so ausgeprägt, daß es möglich wäre, Deck- und Mittelschuppen zuverlässig an ihrer Größe zu unterscheiden. Besser gelingt das schon, wenn nur die hellen und die dunklen Varianten eines Farbtyps für sich genommen werden. Denn die Mittelschuppen sind ein wenig heller als die Deckschuppen. Noch günstiger ist es, wenn man nur

die Schuppen eines relativ kleinen Gebietes untersucht, z.B. einer Zone zwischen Mittelfleck und proximaler oder distaler Querbinde. Aber selbst dann gibt es Überschneidungen (KÜHN und HENKE 1932, v.FINK 1938).

Um einen Überblick zu gewinnen, in welcher Weise die Strukturelemente der verschiedenen Schuppentypen variieren, sollen vier besonders charakteristische Vertreter näher untersucht werden. Es sind: Deckschuppen mit grauer Basis und dunkelbrauner oder schwarzer Spitze (Abb.12a), Deckschuppen mit brauner Basis und heller Spitze (Abb.12b), Mittelschuppen mit grauer Basis und heller Spitze (Abb.12c) und einförmig graue Tiefenschuppen (Abb.12d). Übersichts-Elektronenbilder zeigen in Übereinstimmung mit den Befunden von KÜHN und AN (1946), daß die dunklen Deckschuppen (Abb.12a,e) ein dichtes, die im vorderen Drittel hellen Deckschuppen (Abb.12b,f) aber ein weitmaschiges Trabekelwerk besitzen. Der Übergang von der hellen Spitze zur dunklen Basis prägt sich, soweit Durchlicht-Elektronenbilder eine Deutung gestatten, nicht im Trabekelwerk aus. Die Trabekeldichte nimmt vielmehr in allen Fällen stetig von der Spitze zur Basis ab.

Das Trabekelwerk der grauen Mittelschuppen (Abb.12c,h) ist zarter als das der hellen Deckschuppen. Auch verringert sich seine Konzentration schon im distalen Drittel der Schuppen merklich. Dort tauchen zwischen den Längsrippen helle Flecken auf (Abb.12g), die Verklebungszonen zwischen den beiden Grenzlamellen der Schuppe darstellen (PAWELETZ und SCHLOTE 1964). Noch schwächer ist das Trabekelsystem der Tiefenschuppen entwickelt (Abb.12d,g).

Die Randzacken sind bei den Deckschuppen besonders ausgeprägt; bei den Mittelschuppen sind sie angedeutet, den Tiefenschuppen fehlen sie. In den dunklen Deckschuppen ist jede zweite bis dritte, bei den hellen Deckschuppen und den Mittelschuppen jede zweite bis fünfte Längsrippe ein wenig dicker. Die Breite der Längsrippen der Tiefenschuppen bleibt nahezu konstant (Abb.12e-h).

Die Längsrippen setzen sich am Schuppenrand wie in der Schuppenmitte aus Stäben von mehreren µ Länge zusammen, die firststeinartig übereinandergreifen (Abb.13a,b, vgl. KÜHN und AN 1946). Neue Längsrippen entstehen entweder frei in der Mitte eines sich verbreiternden Zwischenrippenfeldes (Abb.13c). Dann taucht gleichzeitig damit oder auch schon etwas davor beiderseits der neuen Rippe je eine neue Lochreihe auf, während die alte Reihe endet. Oder die neue Längsrippe entspringt einer schon vorhandenen Längsrippe. Dann erscheinen die ersten Löcher unmittelbar hinter der Gabelung im neuen Zwischenrippenfeld (Abb.13d). Im allgemeinen laufen die Längsrippen aber einander parallel von der Spitze zur Basis, biegen so bald sie am proximalen Rand der Schuppe angekommen sind, um und verstreichen auf der Schuppenunterseite.

Der Abstand der Längsrippen voneinander ist [illegible] hellen Deckschuppen am größten. Bei den Mittel- u. Tiefenschuppen bleibt er kleiner. Die Streuung ist relativ groß (Tabelle 1).

Tabelle 1

Abstand der Längsrippen

Schuppenart	apikal	median	basal
TS	1,13 ± 0,09 µ	1,18 ± 0,087 µ	1,09 ± 0,1 µ
MS	1,07 ± 0,09 µ	1,08 ± 0,07 µ	1,07 ± 0,08 µ
he DS	1,31 ± 0,18 µ	1,23 ± 0,11 µ	1,27 ± 0,099 µ

Eine Maßzahl für das Trabekelsystem zu finden, ist schwieriger. In den hellen Deckschuppen ist es besonders grobmaschig und die einzelnen Stränge sind relativ dick. Auch verlaufen die Trabekel des distalen Schuppenabschnittes von hellen Deckschuppen sowie von Mittel - und Tiefenschuppen bevorzugt quer zur Längsachse der Schuppe. Nur in den dunklen Deckschuppen tritt diese Tendenz

zurück. Hier gleicht das Trabekelwerk einem Kreuzgitter (KÜHN und AN 1946). Benachbarte Trabekel halten Abstand voneinander. Dieser Abstand läßt sich bestimmen, sofern die Trabekel eine Vorzugsrichtung in der Bildebene erkennen lassen (Abb.14a,b,e,f) oder die Mehrzahl der Trabekel nahezu senkrecht auf der Schuppenoberfläche steht (Abb.15a-f, Abb.14d). Soweit Messungen durchgeführt werden konnten, zeigen sie, daß die Trabekelperiode in hellen Deckschuppen am größten und in den dunklen Deckschuppen am kleinsten ist (Tabelle 2).

Tabelle 2

Abstand der Trabekel

Schuppenart	
TS	0,68 ± 0,06 µ
MS	0,67 ± 0,08 µ
he DS	0,78 ± 0,1 µ
dk DS	0,61 ± 0,06 µ

Weitaus am klarsten ist die Periode der Querrippen verwirklicht. Doch auch sie ist in den hellen Deckschuppen am größten, kleiner bei den Mittelschuppen, am kleinsten in den Tiefenschuppen. Außerdem nimmt sie von proximal nach distal ab (Tabelle 3, vgl. auch PAWELETZ und SCHLOTE 1964).

Tabelle 3

Abstand der Querrippen

Schuppenart	apikal	median	basal
TS	0,197 ± 0,002 µ	0,189 ± 0,003 µ	0,183 ± 0,003 µ
MS	0,207 ± 0,005 µ	0,200 ± 0,004 µ	0,189 ± 0,003 µ
he DS	0,206 ± 0,01 µ	0,204 ± 0,008 µ	0,193 ± 0,01 µ

C. Abweichungen von der Normalstruktur

In normalen Schuppen setzen die Querrippen unter einer Längsrippe an, beschreiben sodann einen Bogen, dessen Krümmung zur Schuppenspitze zeigt und enden unter der nächsten Längsrippe an einem Ort, der ihrem Ursprung ungefähr gegenüberliegt. Manchmal enden sie wesentlich früher (Abb.16a: 1; 16b: 1), manchmal ninter der Mitte des Zwischenrippenfeldes (Abb.16a: 2). Wäre der Abstand zwischen benachbarten Querrippen konstant, so müßten querrippenfreie Streifen entstehen. Das wurde bei Normaltieren praktisch nie beobachtet. Vielmehr rutschen benachbarte Querrippen näher heran und gleichen dadurch die Fehlstelle aus. Störungen dieser Art treten an den beiden Seiten eines Zwischenrippenfeldes mit gleicher Häufigkeit auf. Deswegen kann die mittlere Richtung der Querrippen beibehalten werden.

Bei einer anderen Unregelmäßigkeit wachsen einzelne Querrippen bis zur Mitte des Zwischenrippenfeldes vor, biegen dort in die Längsrichtung ein und folgen dieser über eine kürzere oder längere Strecke, um dann entweder an einer anderen Querrippe zu enden (Abb.16a: 3; 16b: 3), zur gleichen Seite zurück- (Abb.16a: 4) oder auch zur Gegenseite hinüberzulaufen (Abb.16a: 5). Schließlich können in der Mitte des Zwischenrippenfeldes kurze Querrippenstücke auftauchen, welche zwei oder mehr Querrippen miteinander verbinden (Abb.16b: 6).

In der Mitte des Zwischenrippenfeldes liegen zwischen benachbarten Querrippen die Löcher. Ist ein Loch größer als der Abstand zwischen zwei Querrippen beträgt, so wird an dieser Stelle ein Querrippenstück ausgespart (Abb.16c: 7). Ist das Loch nur etwas größer, so biegen die Querrippen ihm aus.

Längsschnitte durch sich entwickelnde Schuppen hatten wahrscheinlich gemacht, daß die Querrippen ähnlich den Längsrippen durch Auffaltung der Cuticulinschicht gebil-

det werden. Dafür sprach, daß die beobachteten Erhebungen etwa denselben Abstand voneinander hielten wie die Querrippen reifer Schuppen. Auch traten auf Tangentialschnitten durch ältere Schuppen die Querrippen als echte Längsfalten in Erscheinung (PAWELETZ und SCHLOTE 1964). Sofern solche Falten von Anfang an vorhanden sind, müßten auf Querschnitten zwei oder vier schräg angeschnittene Wellenberge sichtbar werden. Denn eine auf den Längsrippen senkrecht stehende Ebene schneidet selbst bei stärker gebogenen Querrippen beiderseits der Mitte eines Zwischenrippenfeldes höchstens zwei Querrippen (Abb. 16a: gestrichelte Linie).

Tatsächlich ist das Zwischenrippenfeld auf sauberen Querschnitten von 10 - 15 Erhebungen bedeckt. Ihr mittlerer Abstand voneinander beträgt 0,15 µ (Abb. 16d: Gabel). Nur an den Rändern der Zwischenrippenfelder treten Verformungen zutage, die man als Schrägschnitte durch Wellenfronten deuten könnte (Abb. 16d: Pfeile). Auch die Unterseite der Schuppe ist mit Erhebungen besetzt. Die Abstände zwischen den Erhebungen der Schuppenoberseite betragen, wie aus Messungen an Längs-, Schräg-, aber auch Querschnitten hervorgeht, 0,19 µ (328 Perioden, 20 Schuppen, Kleinstwert 0,153 µ, Größtwert 0,253 µ). Dieser Befund läßt vermuten, daß erst ein Folgeprozeß die Einzelerhebungen zu jenen Falten zusammenfließen läßt.

D. Störung der Normalstruktur der Schuppen durch Hitzeschock

Um zu klären, inwieweit die Muster einer Schuppe, welche durch Längsrippen, Querrippen, Trabekel und Löcher hervorgerufen werden, voneinander abhängig sind, ist es zweckmäßig, die Entwicklung der Schuppen zu stören. Werden die verschiedenen Strukturelemente unabhängig voneinander angelegt, so müßte man das eine oder das andere

Element teilweise oder ganz zum Verschwinden bringen können, ohne das andere nennenswert zu beeinflussen.

Das Ergebnis derartiger Versuche ist komplex. Auch treten methodische Schwierigkeiten auf. Denn da sich die Schuppen nicht synchron entwickeln, ist es unmöglich, den Zeitpunkt, an dem gestört werden soll, genau festzulegen. Es ist günstiger, während einer mittleren Phase der Entwicklung zu stören und lieber aus dem Nebeneinander von mehr oder weniger abgewandelten Schuppen gewisse morphologische Reihen zu entwickeln. Auch ist z.B. das Trabekelsystem distal stärker entwickelt als proximal. Man muß deshalb darauf achten, daß nur homologe Abschnitte miteinander verglichen werden.

Eine Reihe für zunehmenden Ausfall des Trabekelsystems zeigt Abb.17a-c. Die Schuppe Abb.17a besitzt noch Trabekel, wie sie in manchen basalen Schuppenabschnitten vorkommen. Die Schuppe der Abb.17b trägt kaum mehr Trabekel, sondern nur noch Verdichtungsstellen der Cuticula, aus denen wohl normalerweise Trabekel hervorgegangen wären, denn ihr gegenseitiger Abstand entspricht der Trabekelperiode. In Abb.17c befinden sich dort, wo sonst trabekelreiche Streifen die Schuppe entlangziehen, dunkle amorphe Massen. In allen drei Schuppen sind die Querrippen nahezu normal ausgebildet und auch die Längsrippen nur ein wenig verbogen oder gelegentlich unterbrochen. Zunehmend gestört ist aber das Lochmuster. In Abb.17a sind die Löcher noch angedeutet; sie liegen dort etwa so hintereinander, wie in normalen Schuppen (vgl. Abb.16c). Während sie aber in normalen Schuppen von einer sehr dünnen Schicht bedeckt sind, die im Verlauf des Reifungsprozesses platzt, ist diese hier wesentlich dicker geblieben. In Abb.17b sind auch die Lochreihen fast verschwunden. Die Schuppen der Abb.17c besitzen keine Löcher mehr.

Abb.17d-f zeigt eine Reihe für den zunehmenden Ausfall von Querrippen. In den Schuppen der Abb.17d sind teils am Rand des Zwischenrippenfeldes, teils in seiner Mitte Querrippenstücke ausgefallen. Verbleibende Querrippen sind, insbesondere im Mittelteil des Zwischenrippenfeldes, verbreitert. Die Querrippenperiode ist unverändert. Die Schuppen der Abb.17e enthalten nur noch andeutungsweise Querrippen. An manchen Stellen sind sie bereits vollständig verschwunden. In Abb.17f, die offenbar einen Ausschnitt aus einer dunklen Deckschuppe darstellt (vgl. Abb.14a), gibt es keine Querrippen mehr.

In den Schuppen der Abb.17d-f verlaufen die Längsrippen normal. Die Trabekel sind in Abb.17d u.e verhältnismäßig normal ausgebildet, wenn auch eine Tendenz zur Filigranbildung erkennbar ist und ihre Auffaserung in Mizelle (Abb.17f) über das hinausgeht, was man von normalen dunklen Deckschuppen kennt (vgl. Abb.14a).

Die Löcher der Schuppe Abb.17d sind nach Größe, Helligkeit und Anordnung normal zu nennen. In Abb.17e sind sie wesentlich zu klein geraten, die Schuppe der Abb.17f besitzt praktisch keine Löcher mehr, obwohl der distale Abschnitt von Schuppen dieser Art besonders große Löcher zu enthalten pflegt (Abb.14a).

In den Abb.17g-i soll gezeigt werden, daß die einzelnen Strukturelemente unabhängig voneinander entstehen können. So enthalten z.B. die Schuppen der Abb.17g und h ein normales Längsrippen- und Trabekelsystem. Jedoch kommt es zu relativ starken Störungen in der Ausbildung der Querrippen und der Löcher (Abb.17h). Andererseits können Längsrippen und Querrippen nahezu normal und nur die Trabekelausbildung extrem gestört sein wie in Abb.17i. Auch kann man nicht sagen, daß Lochmuster und Querrippenmuster voneinander abhingen. Denn ein verändertes Lochmuster kann ebensogut in Schuppen mit einem ebenfalls stark gestörten Querrippensystem wie in Schuppen mit wohlentwickelten Querrippen liegen (Abb.17h,i).

Letzlich kann in Schuppen, deren Längsrippen und Löcher bis zur Unkenntlichkeit deformiert sind, das Trabekelwerk, aber auch das Querrippensystem nahezu normal ausgebildet sein (Abb.17k).

Diese Beobachtungen machen wahrscheinlich, daß die wesentlichen Strukturelemente der Schuppe unabhängig voneinander angelegt werden.

Diskussion

A. Die Epicuticula

1. Allgemeines

Die Struktur der Insektencuticula ist uneinheitlich. Es ist dementsprechend schwierig, die Angaben der Autoren miteinander zu vergleichen (Tabelle 4). Im allgemeinen (vgl. WEBER 1949, RICHARDS 1951) treten drei Schichten auf. Sie werden mit Epi-, Exo- und Endocuticula bezeichnet.

Die Epicuticula setzt sich nach WIGGLESWORTH (1947) bei Rhodnius aus vier verschiedenen Zonen zusammen. WIGGLESWORTH nennt sie von außen nach innen fortschreitend Zement-, Wachs-, Polyphenol- und Cuticulinschicht.

WAY (1950), RICHARDS (1951), DENNELL und MALEK (1953), die mit anderen Insekten gearbeitet haben (vgl. Tabelle 4) unterscheiden im wesentlichen nur zwei Schichten. Sie erklären jedoch, daß bei manchen Insekten eine schützende Lage, die Tectocuticula oder Zementschicht, über die Oberfläche gebreitet sein könne. LOCKE (1961) nennt in seinen Diagrammen, zu denen er auf Grund von Beobachtungen an Dünnschnitt-Elektronenbildern von Calpodes,

Galleria und Apis kam, die Zonen der Epicuticula von außen nach innen Zement-, Wachs-, orientierte Lipoid- und Cuticulinschicht. Unter der Cuticulinschicht fand er bei Galleria noch eine besonders dunkle "dichte Schicht". Eine Polyphenolschicht vermag er im Gegensatz zu WIGGLESWORTH nicht zu entdecken. Auch lassen die Elektronenbilder LOCKEs, die er seinen Diagrammen zugrundelegte, die von BEAMENT (1945) geforderte Wachsschicht vermissen. LOCKE nimmt an, daß sie mit OsO_4 nicht fixiert und deshalb während der Dehydratation in den Alkoholstufen ausgewaschen wird. HOLGATE (1956) findet bei Tenebrio über der Zement- noch eine zusätzliche Wachsschicht.

Bei Ephestia erkennt man kurz vor dem Schlüpfen der Imago in der Epicuticula des Vorderflügels zwei deutlich voneinander unterscheidbare Lagen (Abb.8k). Sie wurden von außen nach innen mit Deckschicht (einem unverbindlichen Namen) und mit Cuticulinschicht bezeichnet. An die Cuticulinlage schließt sich nach innen eine stark osmiophile ca. 300 AE breite Zone an, welche in die chitinhaltige Cuticula übergeht. Außerhalb der Deckschicht befindet sich amorphes Material. Weitere periphere Schichten fehlen (Abb.7c, 8d,i,k).

Nimmt man an, daß die von LOCKE mit "orientierte Lipoide" bezeichnete Schicht der hier Deckschicht genannten Lage homolog ist, dann gleichen sich die Epicuticulae von wachs-sezernierender Bienencuticula (LOCKE) und Imaginalcuticula des Vorderflügels von Ephestia bis auf die dichte, der Cuticulinschicht unterlagerte Zone, welche der Biene dort offenbar fehlt (vgl. Tabelle 1 bei LOCKE 1961).

2. Die Cuticulinschicht

Verfolgt man die Bildung der Imaginalcuticula des Vorderflügels, so erscheint, sobald ein Exuvialraum entstanden ist, zunächst die Cuticulinschicht.

Tabelle 4

WIGGLESWORTH (Rhodnius)	RICHARDS (Periplaneta)	DENELL-MALEK (Sarcophaga, Calliphora)	LOCKE (Calpodes, Tenebrio, Galleria, Apis)
-	-	-	-
Zement	Tektocuticula	Zement	Zement (fehlt bei der Biene)
Wachs	Lipoidepicuticula	Wachs Lipoid - oder Paraffinepicuticula	Wachs darunter orientierte Lipoide
Polyphenol	-	-	-
Cuticulin	Proteinepicuticula	Proteinepicuticula mit Steroiden und Proteinen imprägniert	Cuticulin
-	-	-	dichte Schicht

HOLGATE (Tenebrio)	WAY (Diataraxia)	PAWELETZ (Ephestia)
Wachs	-	-
Zement	Zement	?
Wachs	Wachs	Deckschicht = paraffinähnliche Substanz
-	Polyphenole nur bei harten Cuticulae ?	-
Cuticulin	Cuticulin	Cuticulin = Lipoprotein später imprägniert durch Lipoide und Proteine Polyphenole?
-	-	dichte Schicht

Diese Reihenfolge widerspricht dem von WEBER (1949) auf Grund von Beobachtungen von WIGGLESWORTH wiedergegebenen Schema, wonach eine Häutungsdrüse erst dann mit der Abscheidung der Exuvialflüssigkeit beginnen soll, wenn sich die erste Lage der neuen Imaginalcuticula, also die Cuticulinschicht, gebildet hat.

Die Zellgrenzmembran der Hypodermiszellen faltet sich stark auf. Über dem Rücken dieser Falten erscheinen als kurze Lamellen die ersten noch unzusammenhängenden Stücke der Cuticulinschicht (PAWELETZ und SCHLOTE 1964 , vgl. Abb.5a und b, Abb.7a). Sie zeigen bereits jetzt die für Cuticulin charakteristische Mehrschichtigkeit (Abb.7a-c). WIGGLESWORTH (1947) fand, daß die Cuticulinschicht eine positive Million-Reaktion gibt, sich mit Sudan-Schwarz B färbt und in heißer Kalilauge auflöst. Cuticulin und überlagerte Schichten zusammen enthalten bei Rhodnius mithin kein Chitin, dafür aber Lipide und Protein. Wo diese Stoffe in der Epicuticula von Ephestia anzutreffen sind, inwieweit sie insbesondere Bestandteile der Cuticulinschicht selbst darstellen, ist unbekannt, da diese nur 150 AE breite Schicht mit dem Lichtmikroskop nicht gesehen werden konnte. Man kommt auch nicht sonderlich weiter, wenn man die Struktur der Cuticulinschicht mit der einer künstlichen Membran (STOECKENIUS 1962) oder anderen Zellgrenzmembranen vergleicht. Da solche Betrachtungen aber zu Vorstellungen über die Größenordnung führen, in der die Molekularstruktur der Cuticulinschicht zu suchen ist, mögen sie kurz erwähnt werden:

Eine junge Cuticulinschicht gibt etwa denselben Kontrast, ist jedoch doppelt so dick wie eine Zellgrenzmembran (Abb.7a). Zellgrenzmembranen setzen sich, jedenfalls in den Myelinscheiden der Vertebratennerven, aus zwei Lagen von Lipoidmolekülen zusammen, deren lipophile Pole einander zugekehrt sind. Die nach außen weisenden hydrophilen Pole sind

offenbar mit Protein bedeckt (ROBERTSON 1960, STOECKENIUS 1962). Sind diese Proteinfilme ungleich dick, so kommt es zu asymmetrischen Membranen. Werden sie zu einem Myelinpaket aufgewickelt, dann wechseln breite dunkle mit schmalen dunklen Schichten ab. Die Periode von einer breiten Schicht zur anderen beträgt etwa das Doppelte der Dicke der Zellgrenzmembran. Stellt man Membranen aus synthetischen Lipiden künstlich her, dann entstehen gelegentlich Schichten, die aus zwei Paaren von Lipoidmolekülen zusammengesetzt sind. Nachträgliche Zugabe von Protein zur Lösung führt zu 5-schichtigen Gebilden (STOECKENIUS 1962), bei denen zwei sehr dunkle periphere Zonen eine schwächer kontrastierende jedoch ebenfalls dunkle Mittelschicht flankieren. Die drei dunklen Schichten enthalten die hydrophilen, die beiden hellen Zwischenzonen die lipophilen Abschnitte der Lipide. Das Protein sitzt in den dunklen Zonen der Peripherie.

Eine solche "Doppelmembran" ist der Cuticulinschicht der Struktur nach außerordentlich ähnlich. Der Beweis, daß beide Formelemente vergleichbar sind, steht aus. Die Beobachtung, daß die ersten noch unzusammenhängenden Stücke der Cuticulinschicht an ihren Rändern wie abgeschnitten enden, mahnt zur Vorsicht. Denn polare Lipide bilden, sobald sie mit Wasser in Berührung kommen, Myelinfiguren, bei denen die hydrophilen Pole der Moleküle dem Wasser zugekehrt sind. Da diese Pole das Osmium bevorzugt anlagern (STOECKENIUS 1962), müßten an den Rändern der Stücke die dunkle Oberseite mit der weniger dunklen Mittelschicht oder der ebenfalls sehr dichten Unterseite in Verbindung stehen. Inwieweit Artefakte eine derartige Bildung verwischt haben, ist unklar.

3. Die Polyphenolschicht

Die neuentstandene Cuticulinschicht wird alsbald von teils amorphem, teils fibrillärem Material überlagert (Abb.5e). Diese Substanzen werden anscheinend von den Hypodermiszellen selbst gebildet, mittels Bläschen an ihre Oberfläche befördert (Abb.6a-d) und dort durch fingerförmige Protuberanzen der Cuticulinschicht (Abb. 6e, vgl. auch SCHLOTE und PAWELETZ 1964), deren Grenzmembran halb so stark ist wie die Cuticulinschicht, in den Exuvialraum geschleust. Aus ihnen entsteht, soweit diese Elektronenbilder eine Seriierung zulassen, die Deckschicht.

Ob die Deckschicht der Polyphenolschicht von WIGGLESWORTH (1947) gleichgesetzt werden darf, ist fraglich. Ohnehin sollen Polyphenolschichten nur für harte Cuticulae typisch sein. Im Ephestia-Vorderflügel wird man sie deswegen kaum erwarten dürfen. Es ist aber fraglich, ob es eine derartige Schicht überhaupt gibt. WIGGLESWORTH benutzte zu ihrem Nachweis Versilberungsverfahren. Da diese nicht für Polyphenole spezifisch sind, sondern Proteine die gleiche Reaktion geben, nehmen DENNELL und MALEK (1953) an, daß selbst bei Rhodnius die Polyphenolschicht nicht als diskrete Zone vorkommt, sondern daß die für die Härtung verantwortlichen Proteine und Steroide lediglich in die Cuticulinschicht und die angrenzenden Lagen der Cuticula eingebaut worden sind.

Eine Hypothese von PRYOR (1940) besagt, daß das Cuticulin während der Erhärtung durch Einbau aromatischer Querverbindungen zum Sklerotin gegerbt und anschließend mit Lipoiden imprägniert wird. Die vermehrte Osmiophilie von älteren Cuticulinschichten und der ca. 300 AE breiten unterlagerten Schicht (Abb.8) würde diese Hypothese stützen. Wäre hier die Polyphenolschicht zu suchen, so läge sie proximal von der Cuticulinschicht. Das begrenzte Auflösungsvermögen des von WIGGLESWORTH (1947) seinerzeit benutzten Lichtmikroskops läßt diese Deutung

zu.

4. Die Wachsschicht

Sobald bei Rhodnius die Polyphenolschicht abgeschieden ist, erscheint darüber in kleinen, später zusammenfließenden Stücken die Wachsschicht (WIGGLESWORTH 1947). Bei Calliphora, Tenebrio, Periplaneta und Diataraxia befindet sich über dem Cuticulin eine sehr dünne Schicht aus Lipoiden bzw. paraffinähnlichen Substanzen (RICHARDS und ANDERSON 1942, DENNELL und MALEK 1953, HOLGATE 1956, WAY 1950). In seinen Diagrammen und Aufnahmen zeigt LOCKE (1961) über dem Cuticulin eine Schicht, die sich, wie er angibt, aus orientierten Lipoiden zusammensetzen soll.

In ihrer Anordnung, ihren Dimensionsn, ihrer Entstehung und ihrer Reaktion mit Osmium entspricht die Deckschicht bei Ephestia der Schicht der "orientierten Lipoide" bei Galleria, Tenebrio, Calpodes und Apis (LOCKE 1961), der Lipoid- oder Paraffinepicuticula bei Calliphora und Sarrophaga (DENNELL und MALEK 1953), der Lipoidepicuticula bei Periplaneta (RICHARDS und ANDERSON 1942) und der Wachsschicht bei Rhodnius (WIGGLESWORTH 1947), Tenebrio (HOLGATE 1956) und Diataraxia (WAY 1950).

BEAMENT (1948) nimmt auf Grund von Versuchen über die Wasserdurchlässigkeit der Insektencuticula drei lipoidhaltige Schichten an: 1. Eine flüssige oder feste Wachsschicht, 2. verschiedene mit Wachs imprägnierte Proteinhorizonte, 3. eine aus Lipoprotein bestehende Zone.

Die Lipoidepicuticula der Schmeißfliegenlarve zeigt eine für Paraffine charakteristische Röntgenbeugung (DENNELL und MALEK 1953). Käufliches Paraffin reagiert mit einer Permanganatlösung bei Zimmertemperatur innerhalb von 24 Stunden nicht, mit einer OsO_4-Lösung erhält man bei dem gleichen Paraffin jedoch bereits nach 2 Stunden eine oberflächliche Bräunung. Da sich die Deckschicht nicht mit dem lipoidstabilisierenden Permanganat

fixieren läßt (Abb.6h) und nach OsO_4-Behandlung nur einen sehr geringen Kontrast gibt, wird vermutet, daß sie hier aus einer paraffinähnlichen Substanz aufgebaut ist.

5. Die Zementschicht

Über der Wachsschicht liegt bei vielen Cuticulae eine schützende Zementschicht (Literatur bei RICHARDS 1951). Bei einer Anzahl von Dipteren fehlt sie (Literatur bei HOLGATE 1956). Bei Ephestia findet sich kurze Zeit vor dem Schlüpfen über der Deckschicht noch keine weitere Schicht. Entweder besitzt Ephestia keine Zementschicht, da im Flügelepithel keine Häutungsdrüsen gefunden wurden, oder sie wird erst unmittelbar vor oder nach dem Schlüpfen abgeschieden. Bei Rhodnius erscheint sie erst nach dem Schlüpfen (WIGGLESWORT 1947).

B. Die Procuticula

1. Bildungsweise

Fingerförmige Ausstülpungen (Abb.9) und tiefe Einbuchtungen der Zellgrenzmembran (Abb.8i) kennzeichnen das Stadium der Bildung der chitinhaltigen Cuticula. Die Zellgrenzmembran ist auf der Kuppe der Ausstülpungen durch osmiophile Substanz verdickt (Abb.8i, für die Puppencuticula vgl. Abb.3a und b). Zwischen Zellgrenzmembran und innerstem Cuticulahorizont liegen in lockerer Schichtung einander parallele dunkle Filamente (Abb.8i,9, für die Puppencuticula Abb.3a,b). Weiter peripher treten sie dicht aneinander und bilden die Faserzüge der Lamellen (LOCKE 1961, vgl. wenn auch undeutlich, Abb.3a).

Es ist bemerkenswert, daß auch in den Schuppen des Flügels, und zwar dort, wo die Längsrippen angelegt werden, die Zellgrenzmembran aufgefaltet und durch osmiophiles

Material verbreitert wird (PAWELETZ und SCHLOTE 1964). Sobald sich die darüberliegende Cuticulinschicht zu Längsrippen emporgewölbt hat, werden zwischen sie und die Zellgrenzmembran in die Falte der Cuticulinschicht hinein größere Mengen von nach OsO_4-Fixation dunklem filamentösem Material abgeschieden.

Verdickung der Zellgrenzmembran und Abscheidung dunkler Filamente stehen offenbar in enger Beziehung zueinander.

Die als Subcuticula bezeichnete von locker geschichteten Filamenten durchsetzte Zone enthält Proteine und Kohlenhydrate, jedoch angeblich kein Chitin. Sie soll mittels Muco- oder Clycoproteiden die Cuticula mit dem Epithel verbinden (SCHMIDT 1956). Da aber diese Zone gerade während der Bildung der Cuticula auftritt und auch die Zellgrenzmembran in dieser Zeitspanne besonders aktiv ist, wird sie von anderen Autoren für die eigentliche Bildungszone der Cuticula angesehen (LOCKE 1961). Ihre dunklen Filamente könnten den histochemischen Befunden (SCHMIDT 1956) wie dem Verhalten gegenüber Osmium nach zu urteilen, Protein darstellen, während die Vorstufen des Chitins, z.B. das Glucosamin (SEIFERT und CERKASSOV 1960, CANDY und KILBY 1962), die vermutlich als Polysaccharide kaum mit Osmium reagieren, hier unsichtbar bleiben dürften.

2. Schichtung

Die Mehrzahl der Cuticulae setzt sich aus einer Epicuticula, die kein Chitin enthält, und der chitinhaltigen Procuticula zusammen. Den äußeren Teil der Procuticula, in dem die Lamellen besonders dicht gepackt sind und der durch Einlagerung von verschiedenen Substanzen gehärtet wird, bezeichnet man auch als Exocuticula, den inneren als Endocuticula.

Tenebriolarven besitzen eine dicke Exocuticula, bei Tenebriopuppen, Gallerialarven und den wachssezernierenden Teilen der Bienencuticula findet LOCKE (1961) keine Exocuticula. Im Vorderflügel von Ephestia teilt sich die Procuticula an manchen Stellen in Exo- und Endocuticula auf, über anderen Regionen ist sie offenbar nicht unterteilt.

C. Die Röhrchen im Cytoplasma der Epidermiszellen

Im Cytoplasma der Epidermiszellen findet man während mancher Entwicklungsphasen 200 AE starke, nicht von einer Membran begrenzte Röhrchen. Sie lassen sich manchmal mehrere μ weit verfolgen. Einige Stunden vor und nach der Verpuppung sind sie besonders zahlreich. Im Mittelabschnitt der Zelle liegen sie in Bündeln beisammen. Im cuticulanahen Teil sind sie locker verteilt. In der Zeitspanne zwischen Ablösen der Puppencuticula und Bildung der Imaginalcuticula sind sie wesentlich seltener anzutreffen. Beginnt die Imaginalcuticula mit ihrem Wachstum, so nimmt ihre Zahl wieder stark zu.

KÖHLER (1932) fand in den Zellen des Flügelepithels von Ephestia 1 - 2 Tage vor der Verpuppung "einen mit Heidenhain's Eisenhämatoxylin färbbaren Achsfaden, der sich im Zellkörper in einen Kegel feinster Fibrillen aufspaltet und so an den Zellaußenflächen inseriert". Andere Autoren stellten ähnliches fest. So bildet "jede Hypodermiszelle ein dichtes Bündel von Fibrillen, die an der Cuticula durch eine kegelförmige Basis angeheftet sind und die durch die Zelle bis zur Basalmembran ziehen" (TOWER 1903).

In beiden Fällen hat man wahrscheinlich die hier dargestellten Röhrchen beschrieben. Gleiche oder ähnliche Röhrchen wurden bereits mehrfach beobachtet, so z.B. in der Epidermis und in der Duftdrüse von Bombyx mori

(STEINBRECHT 1964) und in der Epidermis der Calpodespuppe (LOCKE 1961). In Pflanzenzellen findet man sie nach Glutaraldehydfixierung im Cytoplasma sowie unmittelbar unter der Zellulosewand (LEDBETTER und PORTER 1963). Etwas dünnere Röhrchen von vergleichbarer Gestalt treten während der Zellteilung zu spindelfaserartigen Konfigurationen zusammen (LEDBETTER und PORTER 1963, vgl. auch die Literatur bei SLAUTTERBACK 1963). Auch fand man solche Gebilde am Rand von sich entwickelnden Nesselkapseln von Hydra (SLAUTTERBACK 1963), an der Oberfläche von Spermatidenzellkernen der Grille (SCHIN 1965) oder in der Nähe von Muskelansatzstellen (STEINBRECHT 1964). Schwerlich handelt es sich in allen Fällen um vergleichbare Elemente.

Bei Ephestia lassen sich die Röhrchen mit Osmium nur wenig schwärzen und lagern kein Silber an (Abb.10b). Phosphorwolframsäure und Uranylacetat erhöhen ihren Kontrast kaum, Bleihydroxyd nur in geringem Maße. Es ist demnach sehr unwahrscheinlich, daß sie nennenswerte Mengen von polar gebauten Lipoiden oder von Protein enthalten. Aber auch Chitin ließ sich nicht in ihnen nachweisen (KÖHLER 1932).

Dennoch sind sie offenbar an der Bildung der Cuticula beteiligt. Dafür spricht ihre mit der Entwicklungsphase schwankende Konzentration in den Hypodermiszellen. Auch stoßen sie in manchen Phasen durch die Zellgrenzmembran hindurch bis in die proximalen Lagen der Cuticula vor. Tangentialschnitte von solchen Stadien (Abb.10a) liefern Bilder, die sich vollständig mit den Beobachtungen von LEDBETTER und PORTER an Pflanzenzellen decken. Denn auch dort ziehen in gewissen Stadien ganze Scharen von Röhrchen bis zum Rande der aus Polysacchariden aufgebauten Zellwand. Es könnte sich in beiden Fällen um polysaccharidhaltige Vorstufen der Zellwand bzw. Cuticula handeln.

D. Vergleich zwischen Flügel- und Schuppencuticula

Struktur und Bildungsweise von Flügel- und Schuppencuticula sind einander in allen wesentlichen Stücken ähnlich. Beide enthalten Chitinmizelle. Beide beginnen ihre Entwicklung mit der Absonderung der Cuticulinschicht, über die, gekoppelt mit dem Auftreten von Protuberanzen, eine Deckschicht gebreitet wird. Auch enthalten die Cytoplasmata beider Zellen jene Röhrchen. Bei beiden kommt es während der Bildung der Procuticula zur Abfaltung von fingerförmigen Fortsätzen bzw. Leisten der Zellgrenzmembran, deren Kuppen bzw. Kämme durch Anlagerung osmiophiler Substanz verdickt werden. Auch wird die Cuticulinschicht beider Cuticulae, offenbar durch Einlagerung von Substanz, mit zunehmendem Alter dunkler. Wenn demgegenüber der Schuppencuticula eine die Cuticulinschicht unterlagernde 300 AE starke dunkle Zone fehlt und sie, wohl wegen ihrer geringen Dicke, keine Lamellen besitzt, also eine besonders schmale Procuticula darstellt, so fällt das nicht ins Gewicht. Denn man muß bedenken, wie ungleich stark auch andere Cuticulae, z.B. die der verschiedenen Abschnitte eines Rumpfsegmentes, sein können (Zusammenfassung bei RICHARDS 1951).

Die spezifische Gestalt der durch Polyploidisierung zur Schuppenbildungszelle gewordenen Hypodermiszelle beruht demnach auf der Aktivierung von besonderen, die Formbildung veranlassenden Faktoren. Sie greifen, wie gezeigt werden konnte (PAWELETZ und SCHLOTE 1964) an der Zellgrenzmembran und der darübergelagerten Cuticulinschicht an.

E. Abweichungen von der Normalstruktur der Flügelschuppe

1. Störungen im Querrippenverlauf normaler Schuppen

Sobald die Cuticulinschicht des Schuppenfortsatzes vollständig abgeschieden ist, beginnen sich die Längsrippen, im endgültigen Abstand voneinander aufzuwölben. Die Zellgrenzmembran macht die Wölbung mit, glättet sich jedoch später wieder. Sind die Längsrippen angelegt, so falten sich Cuticulinschicht und Zellgrenzmembran abermals im endgültigen Abstand voneinander zu Querrippen auf (PAWELETZ und SCHLOTE 1964). Diese Beobachtung führte zu der Hypothese, daß Querrippen als ununterbrochene, von Längsrippe zu Längsrippe ziehende Falten entstünden. Dann sollten aber Querschnitte durch Schuppen, deren Querrippen sich gerade bilden, pro Zwischenrippenfeld zwei, allerhöchstens vier extrem schräg angeschnittene Falten aufweisen. Zu diesen Zahlen kommt man, wenn man in Gedanken Querschnitte von 3 - 500 AE Breite durch eine Schuppe von der Art, wie sie in Abb.16a abgebildet ist, legt.

Tatsächlich beobachtet man, daß selbst auf sauberen Querschnitten das Zwischenrippenfeld von zehn und mehr gleichartigen Erhebungen der Cuticulinschicht besetzt ist, deren Entfernung voneinander etwa ebensogroß ist wie der endgültige Querrippenabstand (Abb.16d). Nun ist zwar der Abstand zwischen den Längsrippen hier besonders groß. An der Tatsache, daß es sich um einen exakten Schuppenquerschnitt handelt, ist, wie die quer getroffenen Längsrippen andeuten, nicht zu zweifeln. Mithin sollten die ersten Anlagen der Querrippen keine von Längsrippe zu Längsrippe ziehenden Querwellen, sondern kuppelförmige Erhebungen darstellen, die im gesamten Zwischenrippenfeld auftreten. Demnach dürfte die Querrippenbildung in zwei Prozesse zerfallen: Einer Aufwölbung der Cuticulinschicht zu äquidistanten kuppelförmigen Erhebungen sollte ein Zusammenfließen der Erhebungen zu Querwellen folgen.

Mit Hilfe dieser Annahme lassen sich Abweichungen im Querrippenverlauf normaler Schuppen, wie sie weiter oben (Abb.16a-c) beschrieben worden sind, zwanglos erklären.

2. Künstliche durch Hitzereiz hervorgerufene Störungen

Nach einem Hitzeschock im Puppenalter von 80 bis 100 Stunden treten in den reifen Schuppen Mißbildungen auf (KÜHN 1936,1941,1948, PAWELETZ u. SCHLOTE 1964). Bei einer gegenseitigen Beeinflussung der Bildungsprozesse sollten auf der gleichen Schuppe verschiedene Strukturelemente nebeneinander gestört sein. Man kann versuchen, die Störungen des einen Elements mit Störungen beliebiger anderer Elemente zu korrelieren. Das Ergebnis zeigt Tabelle 5. Sie stellt eine Auswertung der Abb.17 dar.

Tabelle 5

Abb.	Längsrippen	Querrippen	Löcher	Trabekel
17 d	+	±	+	+
e	+	-	±	±
f	+	-	-	±
h	+	-	-	+
k	-	+	±	+
b	-	±	±	-
a	±	+	±	±
c	±	+	-	-

(+ = normal; ± = etwas gestört; - = stark gestört)

Die Tabelle besagt:

Sind Längsrippen gestört, so können Querrippen und Trabekel normal bis stark gestört sein.

Jede Längsrippenstörung ist aber von einer ± starken Störung in der Ausbildung der Löcher begleitet.

Sind Querrippen gestört, so können Längsrippen, Löcher und Trabekel normal bis stark gestört sein.

Sind Löcher gestört, so können Längsrippen, Querrippen und Trabekel normal bis stark gestört sein.

Sind Trabekel gestört, so können Längsrippen und Querrippen normal bis stark gestört sein.

Jede Trabekelstörung ist aber von einer ± starken Störung in der Ausbildung der Löcher begleitet.

Demnach sind Längsrippenstörung und Lochstörung, Trabekelstörung und Lochstörung irgendwie abhängig voneinander. Das wäre möglich, wenn die Lochbildung zeitlich n a c h der Determination der Längsrippen und der Trabekel einsetzen würde. Da Querrippen nach den Längsrippen angelegt werden, sollte die Reihenfolge, in der die verschiedenen Strukturelemente determiniert werden, etwa die folgende sein:
Längsrippen - Querrippen - Trabekel - Löcher.

Zu dieser Annahme scheint nicht zu passen, daß, wenn der Lochdurchmesser größer ist als die Querrippenperiode, die Querrippen den Löchern entweder ausbiegen oder an ihnen enden. Nimmt man an, daß Löcher durch nachträgliches Auflösen von bereits gebildeter Procuticula zustandekommen, so wäre der Widerspruch behoben. Manches spricht für die Richtigkeit dieser Hypothese. Denn am Ort eines Loches senkt sich die Cuticulinschicht unmittelbar auf die Zellgrenzmembran herab (PAWELETZ und SCHLOTE 1964). Da die Cuticulinschicht in dieser Altersphase wohl noch relativ weich ist, so möchte durch den Prozeß sowohl eine Verschiebung von benachbarten Querrippen wie ein Abflachen von einer unmittelbar über dem Loch liegenden Cuticulinfalte bzw. Querrippenanlage zustandekommen können.

Zusammenfassung

1. a: Die Cuticula des Vorderflügels schlüpfreifer Imagines von Ephestia kühniella Z. setzt sich aus Pro- und Epicuticula zusammen. Die Epicuticula besteht aus der Cuticulinschicht und einer darüber gebreiteten Deckschicht. Diese dürfte, wie erschlossen wird, paraffinähnliche Substanzen enthalten, die anscheinend in der Hypodermiszelle gebildet und mittels fingerförmiger membranbegrenzter Protuberanzen an die äußere Oberfläche der Cuticulinschicht befördert werden. An der Grenze zwischen Procuticula und Cuticulinschicht wird eine ca. 300 AE breite osmiophile Zone abgeschieden. Mit diesem Vorgang gehen Einlagerungen von ebenfalls osmiophiler Substanz in die Cuticulinschicht einher.

b: Eine periphere Zementschicht fehlt der Epicuticula. Die "Deckschicht" dürfte der Wachsschicht anderer Epicuticulae entsprechen. Die unmittelbar darunter liegende 150 AE starke Cuticulinzone ist mehr schichtig. Sie setzt sich aus drei dunklen und zwei dazwischenliegenden weniger dichten Horizonten zusammen. Inwieweit sich die der Cuticulinschicht unterlagerte osmiophile Zone der Polyphenolschicht homologisieren läßt, ist unklar.

c: Die Procuticula baut sich aus Lamellen auf. Mancherorts treten peripher liegende Lamellen besonders eng aneinander. Solche Zonen könnten die Exocuticula darstellen. Die Lamellen enthalten zahlreiche einander parallele tangential verlaufende dunkle Filamente. Wächst die Cuticula, so befindet sich zwischen der letzten kompakten Lamelle und der durch zahlreiche fingerförmige Ausstülpungen stark vergrößerten Zelloberfläche eine Zone, in der jene dünnen Filamente umbiegen und schräg auf die Zellgrenze zulaufen.

d: Während der Puppenhäutung und zu der Zeit, wo die Procuticula besonders stark wächst, enthält das Cytoplasma der Hypodermiszellen zahlreiche 200 AE starke von keiner Membran umschlossene Röhrchen.

2. a: Schuppen- und Flügelcuticula gleichen einander in allen wesentlichen Punkten. Der Schuppencuticula fehlt die osmiophile, dem Cuticulin unterlagerte Zone. Ihre Procuticula ist nicht geschichtet.

b: Normale Schuppen verschiedener Typen unterscheiden sich vornehmlich durch ihr Trabekelwerk.

c: Der Bildung von Querrippen läuft im gesamten Zwischrippenfeld eine Emporwölbung von Cuticulinschicht und Zellgrenzmembran zu äquidistanten kuppenförmigen Erhebungen voraus. Aus der Struktur von durch Hitzeschock abgewandelten Schuppen läßt sich entnehmen, daß Längsrippen, Querrippen, Trabekel und Löcher relativ unabhängig voneinander in dieser Reihenfolge angelegt werden.

Literaturverzeichnis

Beament, J.W.L.: The cuticular lipoids of insects. J.exp.Biol. 21, 115-131, 1945

Beament, J.W.L.: The role of wax layers in the water-proofing of insect cuticle and egg-shell. Disc.Faraday Soc.3 177-182, 1948 aus Richards 1951

Bradbury, S. and G.A. Meek: A study of potassium permanganate "fixation" for electron microscopy. Quart.J.microsc,Sci.3.Ser.101, 241-250, 1960

Candy, D.J. and B.A. Kilby: Studies on chitin synthesis in the desert locust. J.exp.Biol. 39, 129-140, 1962

Dennell, R. and S.R.A. Malek: Homology of the layers of the epicuticle of insects. Nature 171, 298-299, 1953

Feldotto, W.: Sensible Perioden des Flügelmusters bei Ephestia kühniella. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. 128, 299-341, 1933

Finck, E.v.: Genetische Untersuchungen über die Schuppengröße und Schuppenform bei der Mehlmotte Ephestia kühniella Z. Z. indukt. Abstammungs- u. Vererbungslehre 74, 161-201, 1938

Gaudecker, B.v.: Über den Formwechsel einiger Zellorganelle bei der Bildung der Reservestoffe im Fettkörper von Drosophila-Larven. Z. Zellforsch. 61, 56-95, 1963

Henke, K. und I. Mertz: Über die Kerngrößenunterschiede im Flügelepithel der Mehlmotte und ihre Beziehungen zur Größendifferenzierung der Schuppen. Biol. Zbl. 61, 40-64, 1941

Henryson, S., O.W. Haseloff und H.J. Hoffmann: Kleines Lehrbuch der Statistik Walter de Gruyter und Co. Berlin 1960

Holgate, M.W.: The epicuticular wax layers of the pupa of Tenebrio molitor L. J.exp.Biol. 33, 82-106, 1956

Just, G.: Praktische Übungen zur Vererbungslehre. Berlin: Springer 1935

Kühn, A.: Versuche über die Wirkungsweise der Erbanlagen. Naturwissenschaften 24, 1-10, 1936

Kühn, A.: Zur Entwicklungsphysiologie der Schmetterlingsschuppen. Biol. Zbl. 61, 109-147, 1941

Kühn, A.: Über die Determination der Form-, Struktur- und Pigmentbildung der Schuppen bei Ephestia kühniella. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech.Org. 143, 408-487, 1948

Kühn, A. und K. Henke: Genetische und entwicklungsphysiologische Untersuchungen an der Mehlmotte Ephestia kühniella Zeller. I-VII. Abh.Ges.Wiss.Göttingen, math.-phys.Kl. 15 (1), 1929

Kühn, A. und K. Henke: Genetische und entwicklungsphysiologische Untersuchungen an der Mehlmotte Ephestia kühniella Zeller. VIII-XII. Abh.Ges.Wiss.Göttingen, math.-phys.Kl. 15 (2), 1932

Kühn, A. und M. An: Elektronenoptische Untersuchungen über den Bau von Schmetterlingsschuppen. Biol.Zbl. 65, 30-40, 1946

Köhler, W.: Die Entwicklung der Flügel bei der Mehlmotte Ephestia kühniella Zeller mit besonderer Berücksichtigung des Zeichnungsmusters. Z.Morph.u.Ökol.Tiere 24, 582-681, 1932

Köhler, W. und W. Feldotto: Morphologische und experimentelle Untersuchungen über Farbe, Form und Struktur der Schuppen von Vanessa urticae und ihre gegenseitigen Beziehungen. Wilhelm Roux' Arch.Entwickl.-Mech. Org. 136, 313-399, 1937

Ledbetter, M.C. and K.R. Porter: A "microtubule" in plant cell fine structure. J.Cell Biol. 19, 239-250, 1963

Locke, M.: The cuticular pattern in an insect Rhodnius prolixus. J.exp.Biol. 36, 459-477, 1959

Locke, M.: The cuticle and wax secretion in Calpodes ethlius (Lepidoptera, Hesperidae). J.microscop.Sci.Ser. 3 101, 333-338, 1960

Locke, M.: Pore canals and related structures in insect cuticle. J.biophys.biochem.Cytol. 10, 589-618, 1961

Marinozzi, V.: Silver impregnation of ultrathin sections for electron microscopy. J.biophys.biochem.Cytol. 9, 121-133, 1961

Paweletz, N. und F.W. Schlote: Die Entwicklung der Schmetterlingsschuppe bei Ephestia kühniella Zeller. Z. Zellforsch. 63, 840-870, 1964

Pfaff, W.: Untersuchung über den Aufbau der Insektenkutikula und den Eindringungsmechanismus des Kontaktinsektizides E 605. Höfchen-Briefe 5, 93-160, 1952

Picken, L.E.R.: Shape and molecular orientation in lepidopteran scales. Phil.Trans.R.Soc.London Ser.B 234, 1-28, 1949

Pryor, M.G.M.: On the hardening of the cuticle of insects. Proc.R.Soc.London Ser.B 128, 393-407, 1940

Reichelt, M.: Schuppenentwicklung und Pigmentbildung auf den Flügeln von Lymantria dispar unter besonderer Berücksichtigung des sexuellen Dimorphismus. Z.Morph.u.Ökol.Tiere 3, 477-525, 1925

Richards, A.G.: Studies on arthropod cuticle I.Distribution of chitin in lepidopterous scales, and its bearing on the interpretation of arthropod cuticle. Ann. Ent. Soc.Amer. 40, 227-240, 1947

Richards, A.G.: The integument of arthropods. Minneapolis: University of Minnesota Press 1951

Richards, A.G. and T.F. Anderson — Electron microscope studies of insect cuticle. J.Morph. 71, 135-183, 1942

Robertson, J.D.: — A molecular theory of cell membrane structure. Verh.4.intern.Kongr.Elektronenmikroskopie II Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960

Schin, K.S.: — Meiotische Prophase und Spermatidenreifung bei Gryllus domesticus mit besonderer Berücksichtigung der Chromosomenstruktur. Z.Zellforschung 1965, im Druck.

Schmidt, E.L.: — Observation on the subcuticular layer in the insect integument. J.Morph. 99, 211-229, 1956

Schneider, R.: — Die Schuppen an den verschiedenen Flügel- und Körpertheilen der Lepidopteren. Z.ges.Naturwiss. 3.Folge III (LI.Bd.der ganzen Reihe) 1-59, 1878

Seifert, J. und J. Cerkasov — Metabolismus dusiku behem metamorfosy kukly Tenebrio molitor II. Tvorba chitinu a glukosaminu. Act.soc.zool.Bohemoslovenicae 24, 134-138, 1960

Slautterback, D.B.: — Cytoplasmic microtubules I. Hydra. J.Cell.Biol. 18, 367-388, 1963

Steinbrecht, R.A.: — Feinstruktur und Histochemie der Sexualduftdrüse des Seidenspinners Bombyx mori. Z.Zellforsch. 64, 227-261, 1964

Stoeckenius, W.: — The molecular structure of lipid-water systems and cell membrane models studied with the electron microscope. in: The interpretation of ultrastructure. New York - London: Acad.Press 1962

Stoßberg, M.: — Über die Entwicklung der Schmetterlingsschuppen (Untersuchungen an Ephestia kühniella). Biol.Zbl. 57, 393-402, 1937

Stoßberg, M.: Die Zellvorgänge bei der Entwicklung der Flügelschuppen von Ephestia kühniella. Z.Morph.u.Ökol.Tiere 34, 173-206, 1938

Stubbe, A.-E.: Die Wirkungen verschiedener Reizung mit erhöhter Temperatur auf das Zeichnungsmuster zweier Stämme der Mehlmotte Ephestia kühniella. Dissertation 1938

Tower, W.L.: The origin and development of the wings of Coleoptera. Zool. Jahrb.Abt.Anat.Ontogen. Thiere 17, 517-572, 1903

Waddington, C.H. and M.M. Perry: The ultrastructure of the developing eye of Drosophila. Proc.R.Soc.London Ser.B 153, 155-178, 1960

Watson, M.L.: Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. J.biophys.biochem.Cytol. 4, 475-478, 1958a

Watson, M.L.: Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. II. Application of solutions containing lead and barium. J.biophys.biochem.Cytol. 4, 727-730, 1958b

Way, M.J.: The structure and development of the larval cuticle of Diataraxia oleracea (Lepidoptera). J. microscop.Sci. 3.Ser. 91, 145-182, 1950

Weber, H.: Grundriß der Insektenkunde Jena: Gustav Fischer 1949

Wigglesworth, V.B.: The physiology of the cuticle and of ecdysis in Rhodnius prolixus (Triatomidae, Hemiptera); with special reference to the function of the oenocytes and of the dermal glands. Quart.J.microscop.Sci. 76, 269-318, 1933/34

Wigglesworth, V.B.: The epicuticle in an insect, Rhodnius prolixus. Proc.R.Soc.London Ser.B 134, 163-180, 1947

Zeigel, R.F. and A.J.Dalton — Speculations based on the morphology of the Golgi systems in several types of protein - secreting cells. J.Cell Biol. 15, 45-54, 1962

Zeiger, K.: — Probleme der Fixation in Licht- und Elektronenmikroskopie. Verh. 4.intern. Kongr. Elektronenmikroskopie II Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960

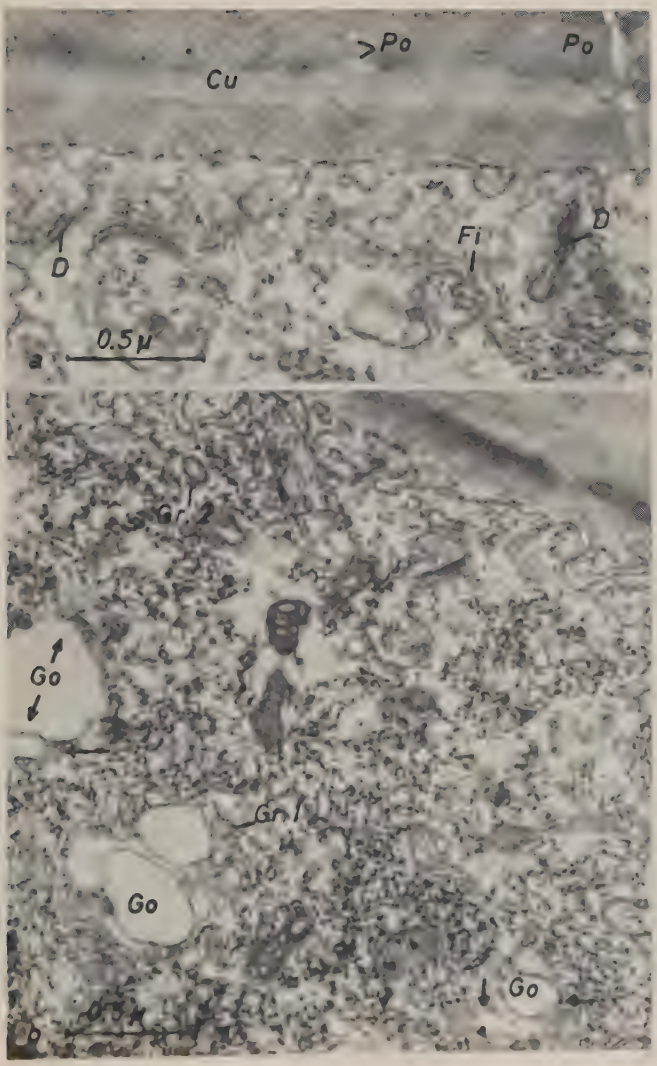

Abb. 1

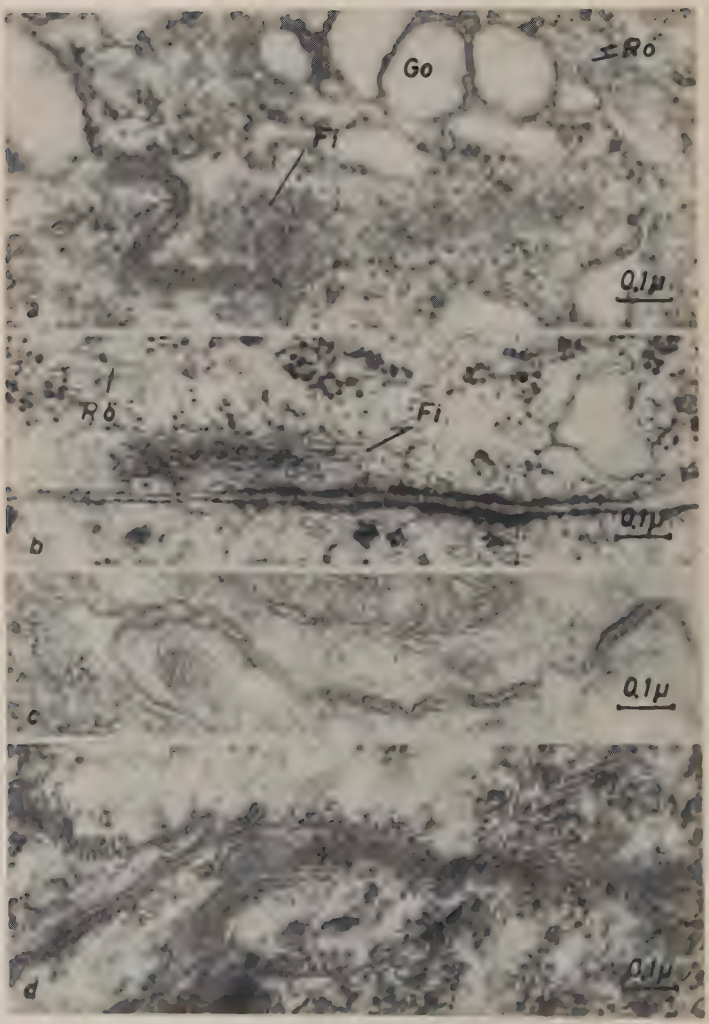

Abb. 2

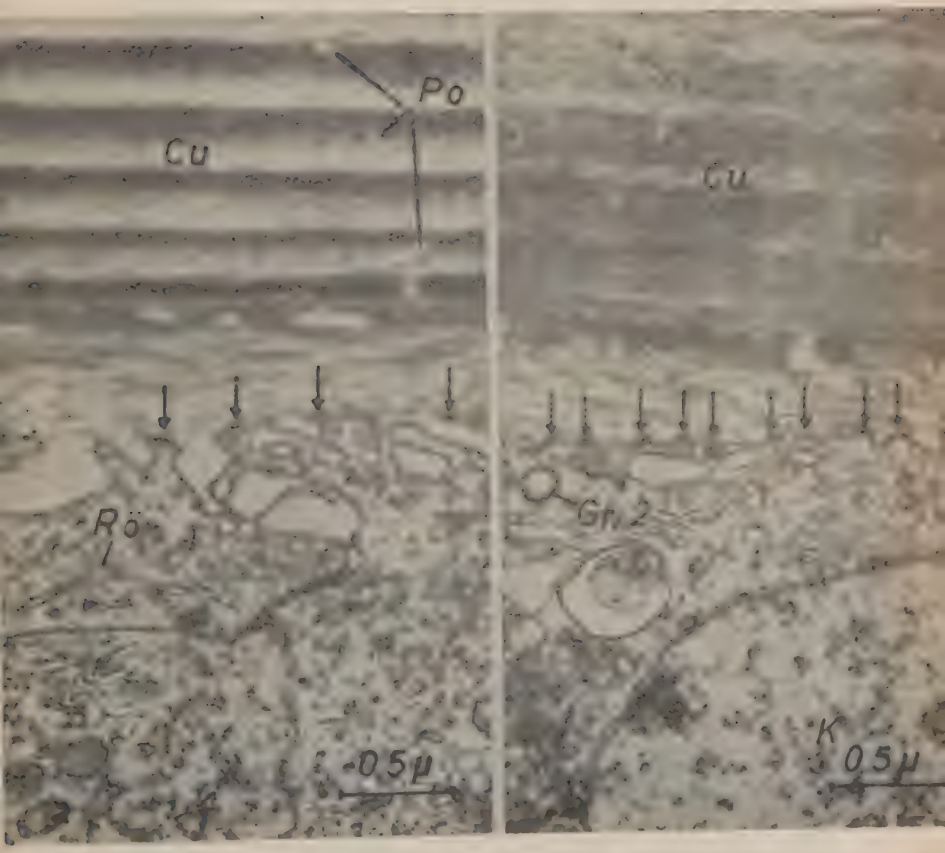

Abb. 3

Abb. 4

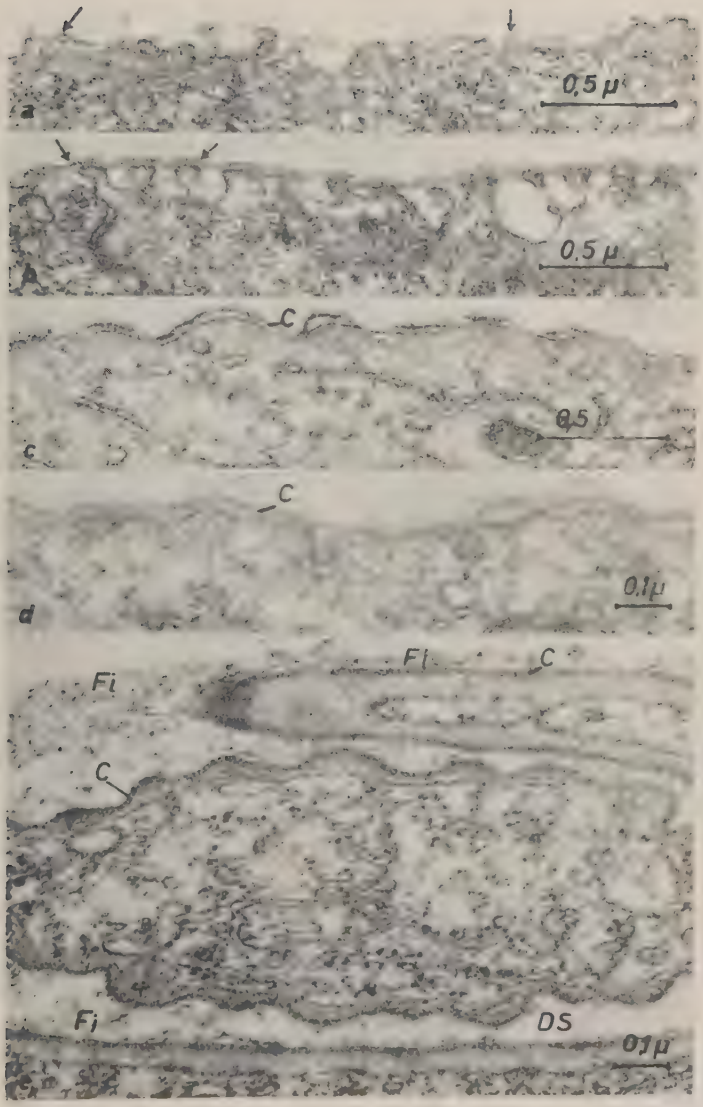

Abb. 5

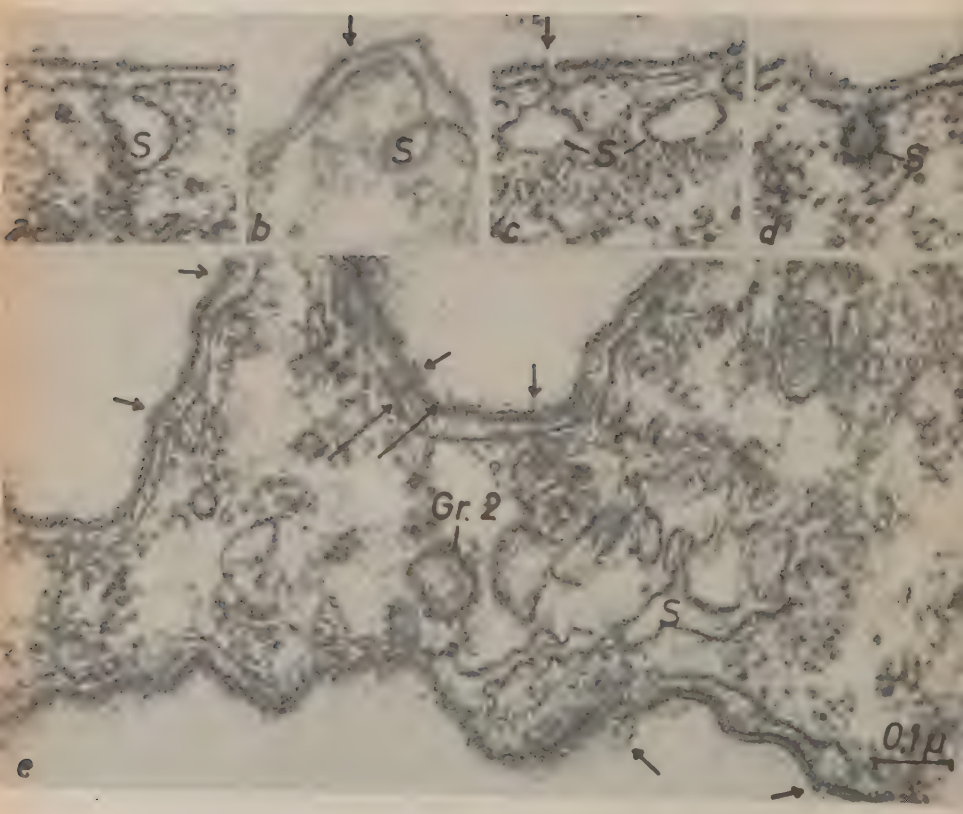

Abb. 6

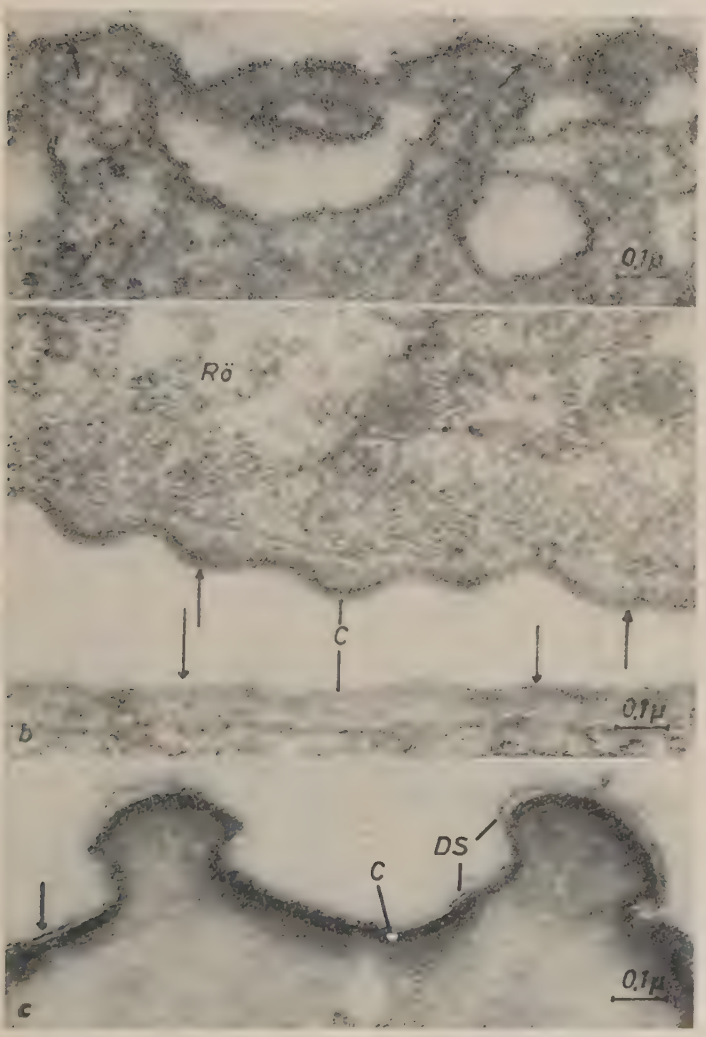

Abb. 7

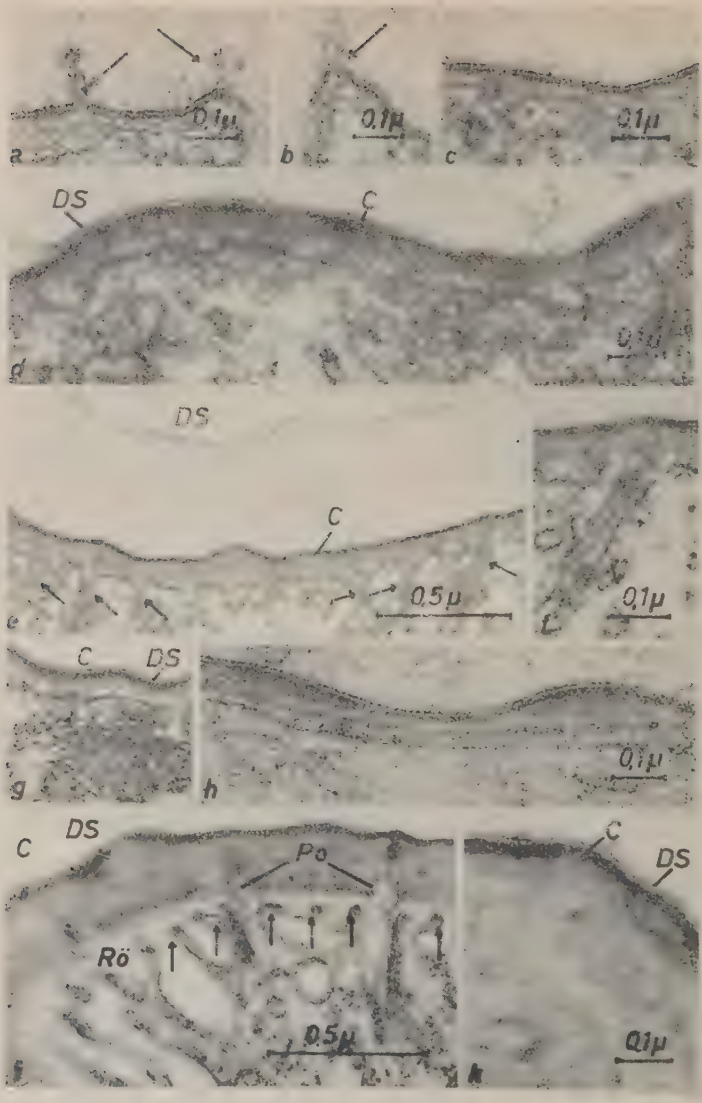
a
0,1µ
b
0,1µ
c
0,1µ
DS
C
d
0,1µ
DS
C
e
0,5µ
f
0,1µ
C
DS
g
h
0,1µ
C
DS
Po
Rö
i
0,5µ
C
DS
k
0,1µ

Abb. 8

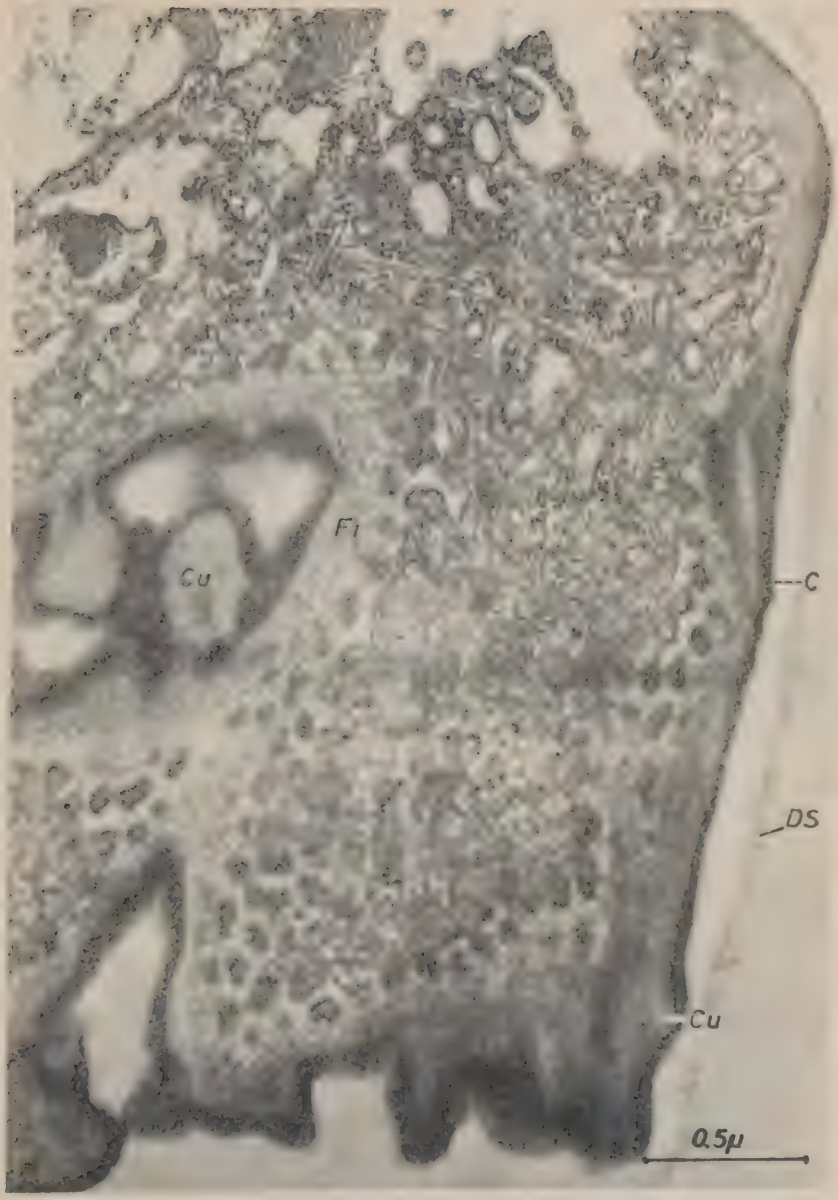

Abb. 9

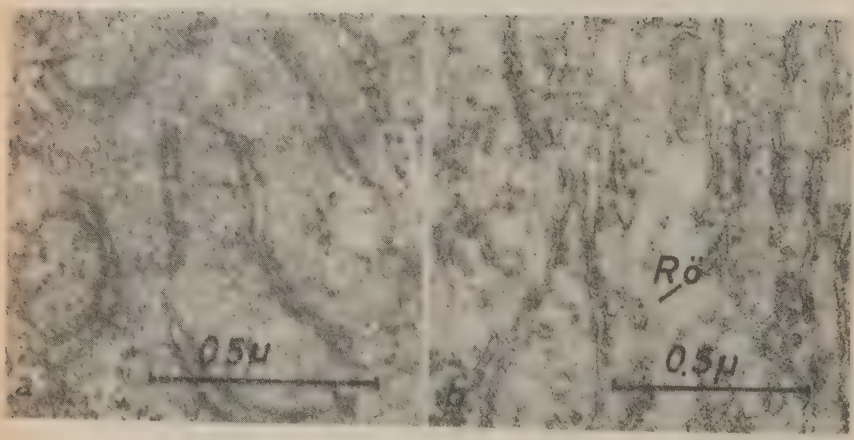

Abb. 10

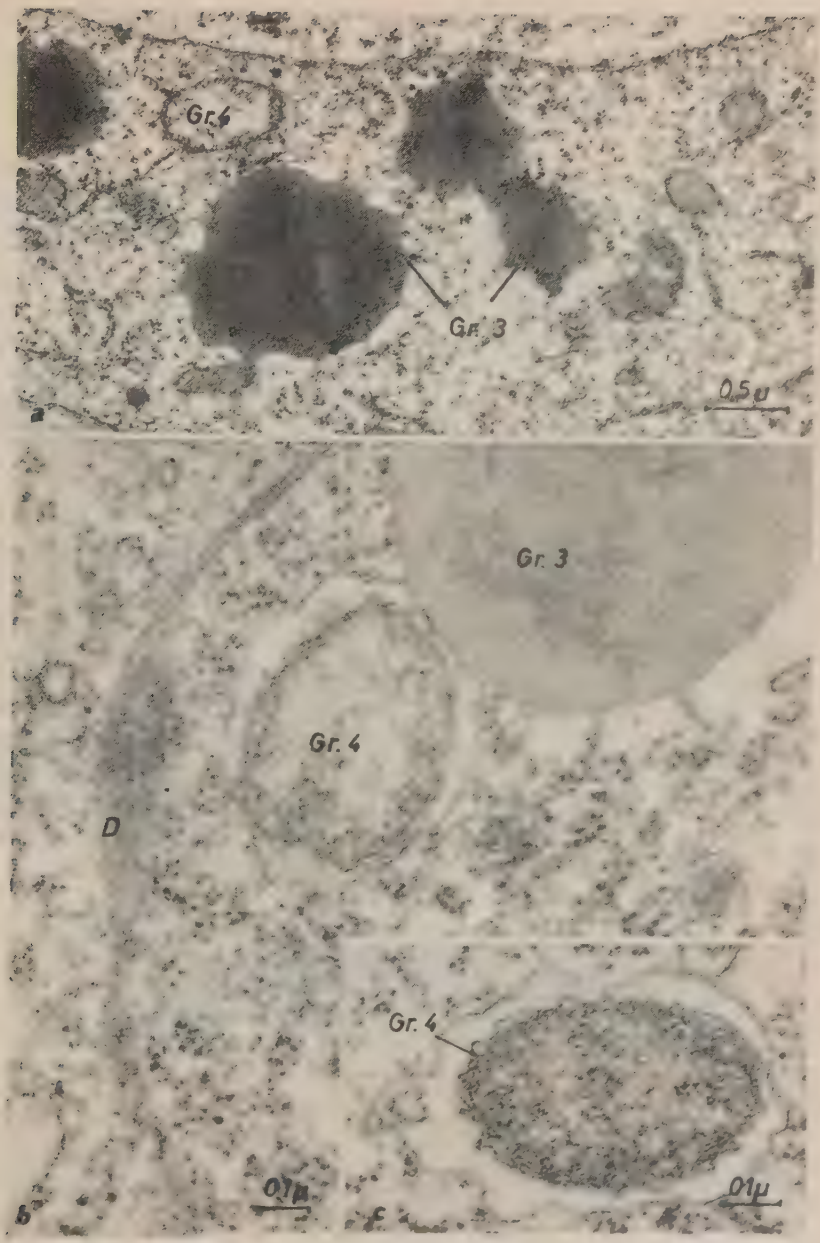

Abb. 11

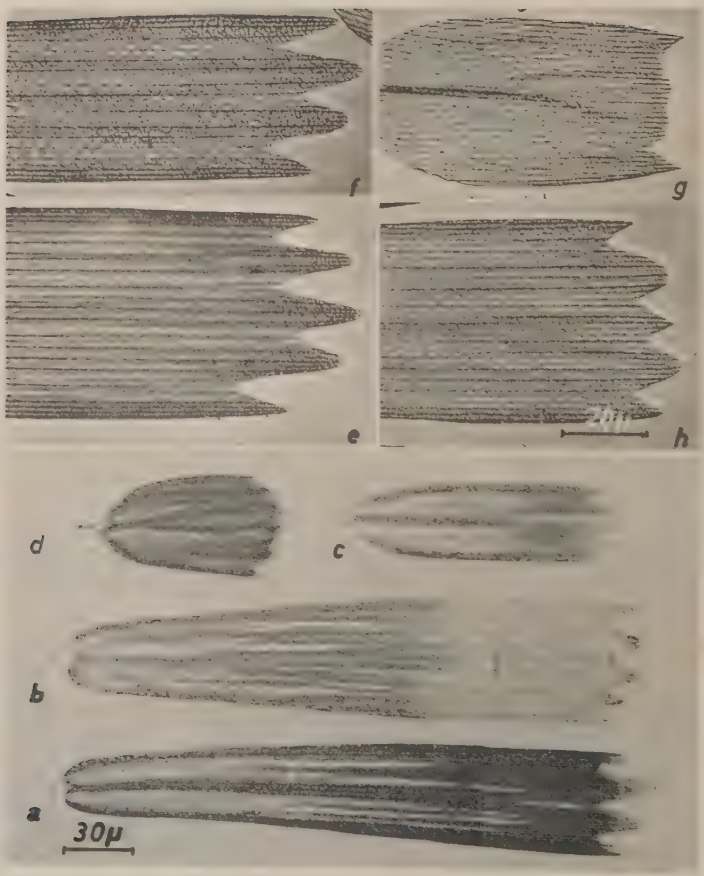

Abb. 12

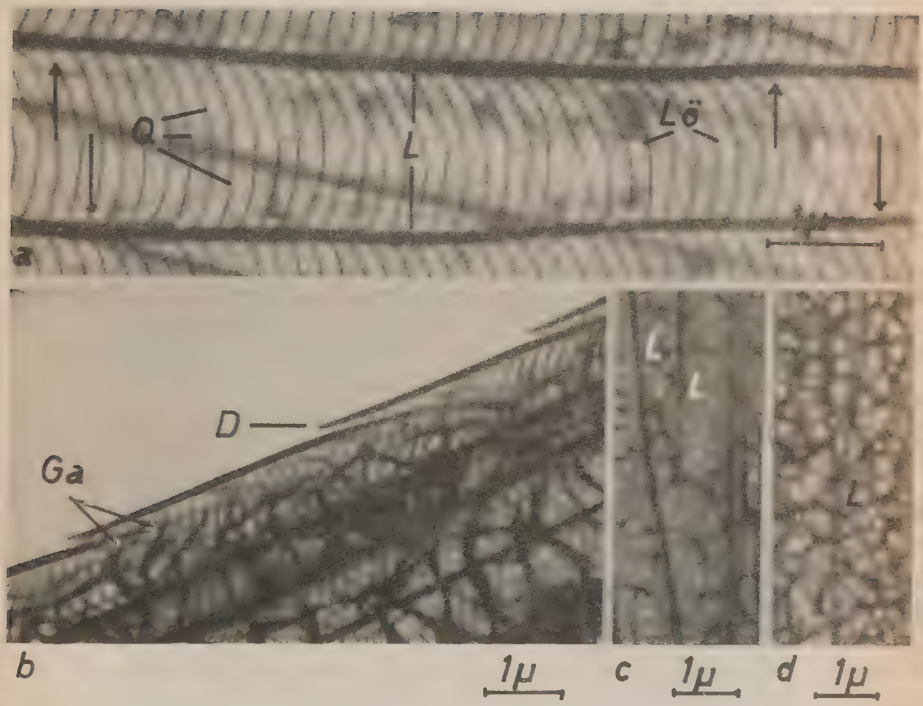

Abb. 13

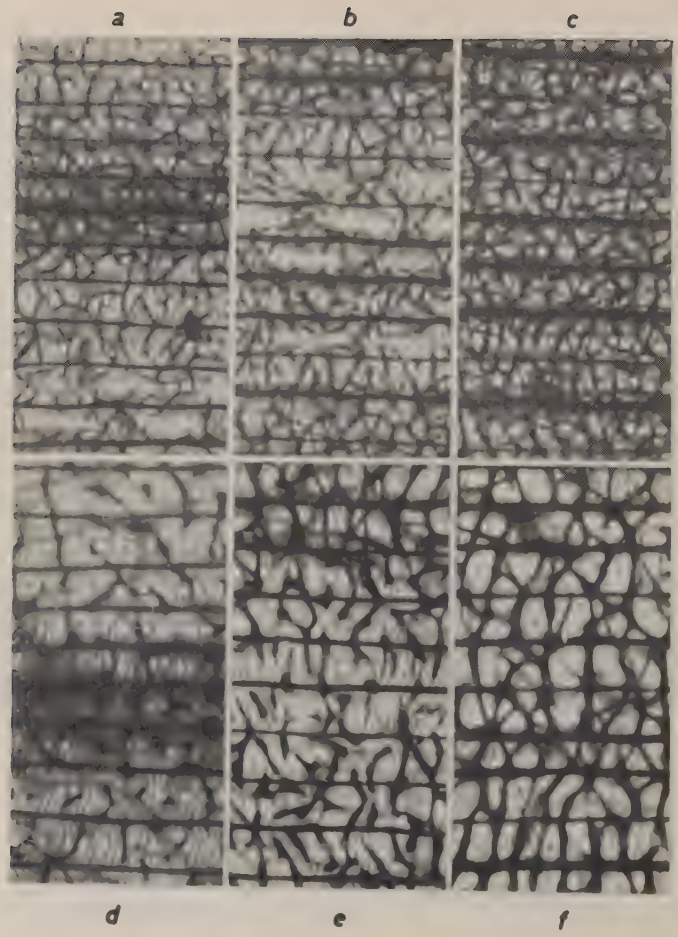

Abb. 14

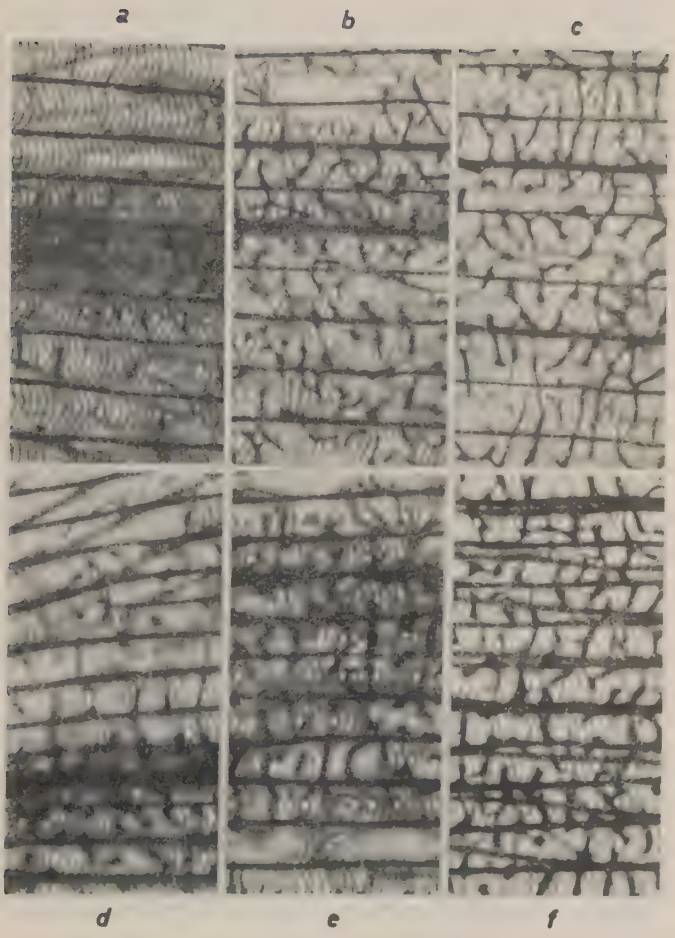

Abb. 15

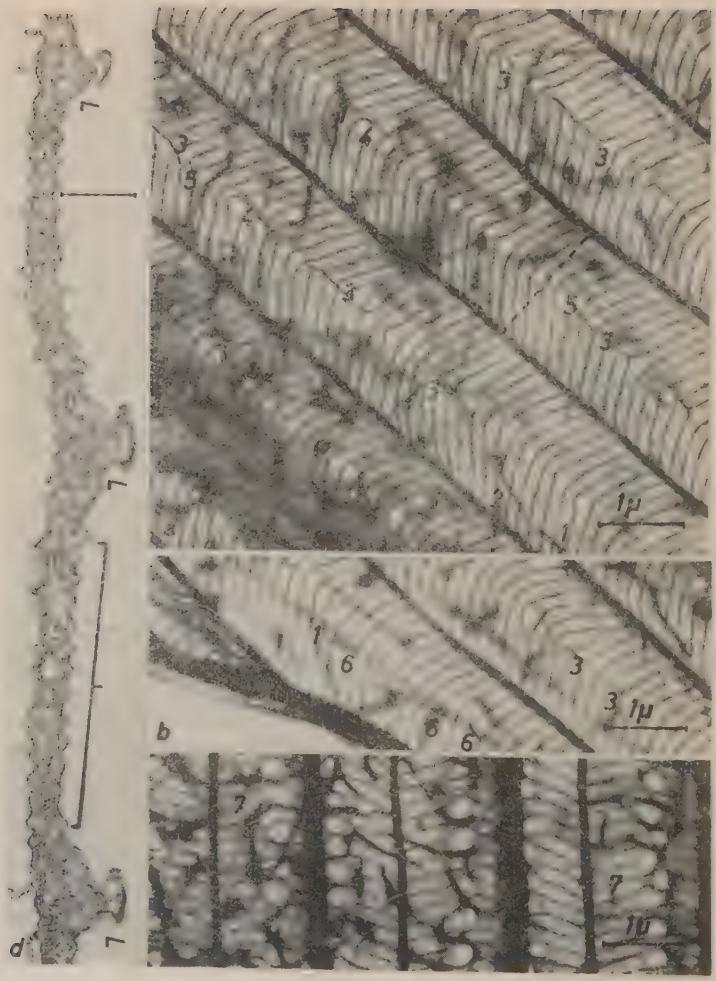

Abb. 16

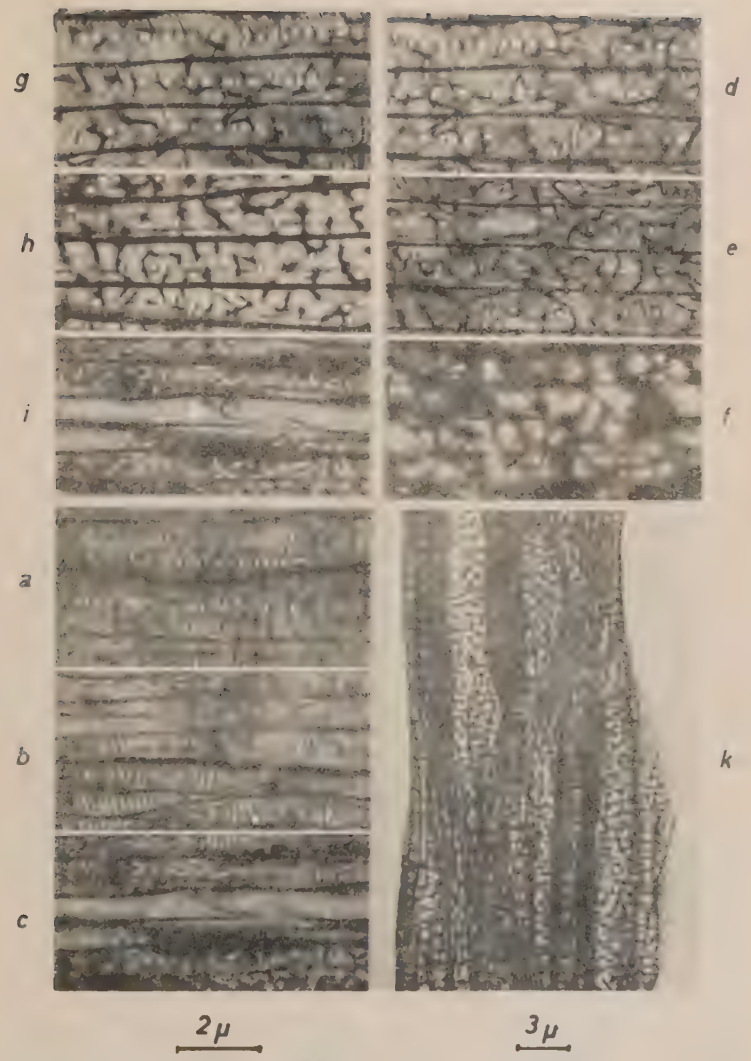

Abb. 17

Abb. 1

a. und b. Querschnitt durch den Flügel kurz nach der Verpuppung. Die Zellgrenzmembran ist zerklüftet. Die Pfeile deuten auf Stellen, an denen dunkle Grana (Gr.1) mit Golgivakuolen (Go) in Verbindung stehen.
1 Stunde, 25°C.
Cu=Cuticula, Po=Porenkanal, Fi=Fibrillen in der Nähe der Desmosomen (D) vom Typ 1 (Vertebratentyp), Gr.2 = Granum, dessen Membran innen und außen mit osmiophiler Substanz belegt ist.

Abb. 2

a. und b. Desmosomen vom Typ 1 (Vertebratentyp).
a. Methacrylat, b. Araldit.
Go = Golgivakuolen, Rö = Röhrchen, Fi = Fibrillen in der Nähe der Desmosomen.
a: 30 Stdn; b: 18 Stdn, 25°C.
c. und d. Desmosomen vom Typ 2 (= Zähnchenmembran).
c. Schnitt senkrecht durch Zellgrenzmembranen, die durch Zähnchen miteinander verbunden sind.
Araldit. 119 Stdn, 25°C.
d. Tangentialschnitt. Die Zellgrenzmembranen tragen Leisten, die von Stegen überbrückt werden. Methacrylat.
80 - 100 Stdn, 25°C.

Abb. 3

a. und b. Querschnitt durch den Flügel einige Stunden nach der Verpuppung. Die innersten Schichten der Puppencuticula werden gebildet. Die Zellgrenzmembran ist stellenweise emporgewölbt und auf der Kuppe durch osmiophile Substanz verdickt (Pfeile). Zwischen Zellgrenzmembran und

Cuticula liegt eine filamentreiche Zone. 18 Stdn, 25°C.
Cu = Cuticulalamellen, Po = Porenkanal, Rö = Röhrchen,
K = Kern, Gr. 2 = Granum, dessen Membran innen und außen mit osmiophiler Substanz belegt ist.

Abb. 4

Querschnitt durch den Flügel. Eine Schuppenbildungszelle (Sbz) beginnt, ihren Fortsatz über das Epithel emporzuschieben.
Ex = Exuvialraum, Häm = Hämolymphe,
MiLa = Mittellamelle des Flügels,
Gr. 3 = osmiophiles Granum. 60 - 80 Stdn, 25°C.

Abb. 5

a. und b. Die Zellgrenzmembran ist stark zerklüftet. Die Cuticulinschicht entsteht in kurzen Stücken, die zu größeren Flächen zusammenfließen (Pfeile). 60 - 80 Stdn, 25°C.
c. Die Cuticulinschicht lagert wie die übrigen Zellmembranen kolloidales Silber an.
C = Cuticulinschicht. 60 - 80 Stdn, 25°C.
d. Die vollständige Cuticulinschicht (C) liegt in nahezu gleichmäßigem Abstand über der Zellgrenzmembran. Schuppe 60 - 80 Stdn, 25°C.
e. Querschnitt durch den Schuppenstiel im Balg. Über der Cuticulinschicht (C) befindet sich fibrilläres Material (Fi), das sich stellenweise zur Deckschicht (DS) zusammenlegt. 110 - 130 Stdn, 25°C.

Abb. 6

a. - e. Die Cuticulinschicht zeigt verwachsene Stellen (Pfeile). Stellenweise öffnet sich die äußere Lage der

Cuticulinschicht trichterartig (geschwänzter Pfeil); membranbegrenzte Protuberanzen weisen in den Exuvialraum (doppelt geschwänzter Pfeil).
Membranbegrenzte Säckchen (S) öffnen sich an der Zelloberfläche. 70 - 90 Stdn, 25°C.

Abb. 7

a. Die ersten kurzen Stücken der Cuticulinschicht zeigen bereits die charakteristische Mehrschichtigkeit (Pfeile). 100 Stdn, 25°C.
b. Die vollständige Cuticulinschicht besteht aus zwei dunklen peripheren Lagen, die von einer hellen Zone getrennt werden. Durch die Mitte der hellen Zone zieht eine dritte dunkle Linie, deren Kontrast jedoch geringer als der der peripheren Linien ist (Pfeile).
C = Cuticulinschicht, Rö = Röhrchen.
90 - 110 Stdn, 25°C.
c. Der Kontrast der Cuticulinschicht (C) in der älteren Cuticula hat durch Einlagerung von osmiophiler Substanz zugenommen. Die Mehrschichtigkeit ist erhalten geblieben (Pfeile), unterhalb des Cuticulins ist in die chitinhaltige Cuticula ebenfalls osmiophile Substanz eingelagert. DS = Deckschicht. 188 Stdn, 25°C.

Abb. 8

a. und b. Von der Cuticulinschicht weisen membranbegrenzte Protuberanzen in den Exuvialraum (Pfeile). 70 - 90 Stdn, 25°C.
c. Die mehrschichtige Cuticulinlage ist vollständig, darüber liegt amorphes Material. 70 - 90 Stdn, 25°C.
d. Über der Cuticulinschicht (C) liegt in gleichmäßigem Abstand die Deckschicht (DS). Die Osmiophilie des Cuticulins und der darunterliegenden Schicht hat zugenommen,

zwischen Zellgrenzmembran und Cuticulin erkennt man amorphes Material. 138 Stdn, 25°C.
e. Unter dem Cuticulin erscheint die homogene chitinhaltige Cuticula, die Deckschicht (DS) ist artefiziell verändert. Die Zellgrenzmembran bildet tiefe Einbuchtungen ins Zellinnere (Pfeile). C = Cuticulin. 147 Stdn, 25°C.
f. Ausschnitt aus e. Die Einstülpung der Zellgrenzmembran ist mit Cuticulamaterial gefüllt. 147 Stdn, 25°C.
g. und h. Die chitinhaltige Cuticula zeigt mehrere Zonen. C = Cuticulin. h. Fixierung mit Permanganat, die Deckschicht ist nicht erhalten. 11o - 13o Stdn, 25°C.
i. Die Zellgrenzmembran ist während der Bildung der Cuticula tief eingefaltet. Die Kappen der Zellfortsätze sind durch osmiophile Substanz verdickt (Pfeile). Röhrchenartige Gebilde (Rö) ziehen in die Porenkanäle (Po). Die Deckschicht (DS) liegt gleichmäßig über dem Cuticulin (C), dessen Osmiophilie stark zugenommen hat. 196 Stdn, 25°C.
k. Das Cuticulin (C) geht unmittelbar in die aus mehreren Lamellen aufgebaute Procuticula über. Die Deckschicht liegt gleichmäßig über dem Cuticulin.
19o - 22o Stdn, 25°C.

Abb. 9

Tangentialschnitt durch die Cuticula und die angrenzenden Schichten. Die Zellgrenzmembran bildet fingerförmige, hier quergeschnittene Fortsätze, von denen Filamente (Fi) zur Cuticula ziehen. Über der stark osmiophilen Cuticulinschicht (C) liegt eine artefiziell veränderte Deckschicht (DS).
Cu = chitinhaltige Cuticula. 147 Stdn, 25°C.

Abb. 1o

a. Bündel von quergeschnittenen Röhrchen zur Zeit der Bildung der chitinhaltigen Cuticula der Imago. 2oo Stdn, 25°C.
b. Silberimprägnation; die Röhrchen (Rö) lagern kaum Silber an. 6o - 8o Stdn, 25°C.

Abb. 11

a. Im Cytoplasma der Epithelzellen liegen stark osmiophile, nicht von einer Membran umgebene Grana (Gr. 3) und Einschlußkörper (Gr. 4). 47 Stdn, 25°C.
b. Ein Einschlußkörper (Gr. 4) steht in Kontakt mit einem osmiophilen Granum (Gr. 3).
D = Desmosomen vom Typ 2, z. T. tangential geschnitten. 47 Stdn, 25°C.
c. Der Einschlußkörper (Gr. 4) liegt in einer membranbegrenzten Blase. Er selbst ist von zwei Membranen umgeben. Seiner Struktur nach ist es ein Bakterium. 30 Stdn, 25°C.

Abb. 12

a. - d. Lichtmikroskop. e. - h. Elektronenmikroskop.
a. Deckschuppe mit dunkler Spitze.
b. Deckschuppe mit heller Spitze.
c. Graue Mittelschuppe.
d. Tiefenschuppe.
e. Apikalteil einer dunklen Deckschuppe.
f. Apikalteil einer hellen Deckschuppe.
g. Tiefenschuppe.
h. Apikalteil einer Mittelschuppe mit heller Spitze.

Abb. 13

a. Ausschnitt aus einer Tiefenschuppe basal.
Die Längsrippen sind auch auf der Schuppenfläche in kurze Stücke unterteilt (Pfeile).
Q = Querrippen, Lö = Löcher, L = Längsrippen.
b. Randzone. Die Längsrippenteilstücke sind deutlich zu erkennen. Sie beginnen schwalbenschwanzartig gegabelt (Ga) und enden vordachartig über dem nächstfolgenden Teilstück (D).
c. Eine Längsrippe (L) wird mitten im Zwischenrippenfeld neu eingezogen.
d. Zwei Längsrippen (L) entstehen durch Gabelung einer bereits ausgebildeten Längsrippe.

Abb. 14

a. - c. Ausschnitte aus einer dunklen Deckschuppe.
a. basal, b. median, c. apikal.
d. - f. wie a. - c. jedoch aus einer hellen Deckschuppe.

Abb. 15

a. - c. Ausschnitte aus einer grauen Mittelschuppe.
a. basal, b. median, c. apikal.
d. - f. wie a. - c. jedoch aus einer Tiefenschuppe.

Abb. 16

a. - c. Abweichungen im Querrippenverlauf bei Schuppen normal gehaltener Tiere.
Erklärung siehe Text.
d. Querschnitt durch eine Schuppe. Zwischen den Längsrippen (L) haben sich auf Ober- (Gabel) und Unterseite Aufwölbungen der Cuticulinschicht und der Zellgrenzmem-

bran gebildet.

Abb. 17

Schuppen nach Hitzeschock

a. - c. Ausfall der Trabekel und Löcher.
Querrippen ungestört, Längsrippen leicht gestört.
a. Trabekel und Löcher fast normal.
b. Trabekel und Löcher gestört.
c. Trabekel und Löcher fehlen.
d. - f. Ausfall der Querrippen. Längsrippen ungestört.
d. Querrippen stückweise ausgefallen, Löcher und Trabekel normal.
e. Querrippen nur angedeutet, Löcher verkleinert, Trabekel normal.
f. Querrippen und Löcher fehlen, Trabekel stark zerfasert.
g. - i. Verschiedene Elemente gestört.
g. Längsrippen, Löcher und Trabekel normal, Querrippen stückweise ausgefallen.
h. Längsrippen normal, Löcher unregelmäßig verteilt, Querrippen nur angedeutet, Trabekel leicht zerfasert.
i. Querrippen normal, Längsrippen leicht gestört, Trabekel und Löcher fehlen.
k. Querrippen und Trabekel normal, Längsrippen und Löcher stark gestört.
Die Hitzereizung erfolgt im Puppenalter von:

a. b. u. k.:		77 Stdn
c. - i.	:	99 Stdn
d. u. g.	:	125 Stdn
e. u. f.	:	96 Stdn
h.	:	1oo Stdn.

Lebenslauf

Am 3. November 1935 wurde ich, Neidhard Paweletz, als Sohn des Gärtners Alfred Paweletz und seiner Ehefrau Marta geb. Schattmann in Ossen Kreis Gr.Wartenberg/ Schlesien geboren.

Vom Herbst 1942 bis zum Januar 1945 besuchte ich in Ossen die Volksschule. Nach der Vertreibung aus Ossen lebte ich mit meinen Eltern in Groß-Rhüden am Harz und ging dort bis Ostern 1948 zur Volksschule, von Ostern 1948 bis zur Reifeprüfung im Frühjahr 1957 in das neusprachliche und mathematisch naturwissenschaftliche Gymnasium in Seesen am Harz.

Mein Studium der Biologie, Chemie und Physik begann ich im Sommersemester 1957 an der Georg-August-Universität in Göttingen.

Nach der bestandenen A-Prüfung des Staatsexamens (Philosophikum) im Sommersemester 1961 arbeitete ich im I. Zoologischen Institut der Universität unter der wissenschaftlichen Anleitung von Herrn Privatdozent Dr. Schlote an der experimentellen Arbeit: Die Entwicklung der Imaginalkutikula und der Schuppen bei Ephestia kühniella.

Seit April 1964 bin ich als Verwalter einer wissenschaftlichen Assistentenstelle am Institut für experimentelle Krebsforschung der Universität Heidelberg tätig.

An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor Dr. Birukow danken für die Überlassung eines Arbeitsplatzes im Zoologischen Institut. Mein Dank gilt auch meinen akademischen Lehrern, den Herren Professoren: Birukow, Bückmann, Heberer, Piepho, Schwartzkopff; Firbas, Harder, Pirson; Brockmann, Glemser, Schneider; Flammersfeld und Hilsch.

Herrn Privatdozent Dr. Schlote danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und für die Hilfe, die er mir jederzeit gewährte.

Foto - Druck
Chemoprint OHG
Gießen